



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Intitulé

**Approche phytochimique et activités biologiques (*in vitro* et *in vivo*) d'une  
plante médicinale : *Silybum marianum* L.**

Présenté par : BENYOUCEF Fatima Zohra

FERITAS Hadjer

Le : 25/06/2018

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : Dr.Madi Aicha(Maitre de conférences classe B-UFM Constantine1).

Rapporteur : Dr.Maameri Zineb (Maitre de conférences classe A-UFM Constantine1).

Co-Encadreur :Dr.Halmi Sihem(Maitre de conférences classe B-UFM Constantine1).

Examinatrice :Dr.Mosbah Asma(Maitre de conférences classe A-UFM Constantine1).

Année universitaire

2017-2018

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



# Remerciements

*Nous commençons mes remerciements par louange à Allah qui nous a éclairci le chemin du savoir et nous a donné la volonté et la patience nécessaire pour la réalisation de ce modeste travail.*

*Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements et notre profonde gratitude à notre promoteur Madame MAAMRI - HABIBATNI Zaineb (MCA) pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigoureuse scientifique, sa patience, sa disponibilité et ses conseils précieux.*

*Nous tenons à remercier Madame MADI Aïcha (MCB) pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le jury et également Madame MOSBAH Asma (MCA) d'avoir accepté d'examiner notre travail sans oublier Madame HALMI Sihem qui nous a accompagnée tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*Finalement, nos profondes remerciements au personnel du laboratoire de biochimie qui nous ont aidés en particulier LARABA Djamel, Nabil, sans oublier Mr. BAHRI Laïd responsable à l'animalerie .*

*Hadjer et Fatima*





# Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à tous ceux que j'aime et qui sont chers à mon cœur.*

*Je dédie tout particulièrement aux deux êtres les plus chers à mon cœur, et qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui :*

*A mon cher papa qui souffert avec moi tout au long de mes études, que dieu te garde pour nous.*

*A ma chère maman que j'aime infiniment, merci d'être une source de tendresse et d'amour.*

*A mes chers frères Zakaria et Hamza et mes adorables sœurs Lamia et Meriem.*

*Je tiens à faire une dédicace toute particulière :*

*Au personne qui, au moment où je désespérais le plus, n'a cessé de me supporter et de m'encourager à aller de l'avant et d'avoir accepté de m'aider durant cet mémoire, j'ai nommé mon oncle : Hamid .*

*Je dédie également mes cousines Maroua, Amina, Rania et Safa.*

*Je dédie tout aussi à tous mes amis et plus particulièrement à Afaç, Hamama , Nahla, Zaki et Noureddine.*

*Hadjer*



# Dédicace

*Du profond de mon cœur ,je dédie ce travail  
à tous ceux qui me sont chers ,*

*A mes chères parents*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon  
respect ,mon amour éternel et ma considération  
pour les sacrifices que vous avez concenti  
pour mon instruction et mon bien être*

*Que ce modeste travail soit l'exaucement de  
vos vœux tant formulés ,le fruit de vos  
innombrables sacrifices .puisse dieu,le très  
haut ,vous accorder santé,bonheur et longue  
vie.*

*A mon cher frère Mansour*

*A mes chères sœurs Meriem, Halima, Aya*

*A mon cher neveu Assoumi*

*A mes cousines*

*Hassiba, Rayan, Amina, Mouna, Zeineb,*

*Meriem, Mounira et toute la famille*

*Benyoucef et Amari*

*A ma chère grande mère Cherifa*

*A mes tantes Zoubeida et Sihem*

*A mon encadreur Maameri zineb*

*A mes chères amies*

*roumeissa, rayan, Imen, Noussa, KENZA et  
Khadidja et à toutes mes camarades*

*Fatima*

Remerciements	
Liste des tableaux.....	VII
Liste des figures.....	VIII
Liste des abréviations.....	XII
Introduction générale.....	1

*Partie I : Etude bibliographique*

**Chapitre I : Etude botanique de *Silybum marianum***

I .1. Historique.....	3
I .2. Noms de la plante.....	3
I .3. Systématique.....	4
I .4. Origine et habitat.....	4
I .5. Description morphologique.....	5
I .6. Cycle de vie.....	9
I .7. Conditions de croissance et de développement.....	10
I .8. Composition chimique de la graine.....	11
I .9. Applications pharmacologiques.....	13
I .10.Toxicité.....	18
I .11.Utilisation.....	19

**Chapitre II : Stress oxydant**

II.1.Radicaux libres.....	20
II.1.1.Définition.....	20

---

II.1.2.Principaux types des espèces réactives d'oxygène(ERO).....	20
II.1.2.1.Radical superoxyde.....	21
II.1.2.2.Radical hydroxyle.....	21
II.1.2.3. Peroxyde d'hydrogène.....	22
II.1.2.4.Monoxyde d'azote.....	22
II.1.2.5.Radicaux alkyles R• et peroxy ROO'.....	23
II.1.2.6.L'oxygène singulet( <sup>1</sup> O <sub>2</sub> ).....	23
II.1.3.Origines des radicaux libres.....	23
II.1.3.1.Origines exogènes.....	23
II.1.3.2.Origines endogènes.....	24
II.1.4.Rôles physiologiques des radicaux libres.....	25
II.2.Antioxydants.....	25
II.2.1.Définition.....	25
II.2.2.Classification des antioxydants.....	26
II.2.2.1.Antioxydants enzymatiques.....	26
a) Les superoxydes dismutases.....	26
b) La catalase.....	26
c) La glutathion peroxydase(GPx).....	27
II.2.2.2.Systèmes antioxydants non enzymatiques.....	27
1-Le système antioxydant endogène non enzymatique.....	28
a) Glutathion.....	28
b) L'acide urique.....	28
c) bilirubine.....	28
d) Acide lipoïque.....	29



e) Coenzyme Q10.....	29
2-Le système antioxydant exogène non enzymatique.....	29
a) La vitamine C ou l'acide ascorbique.....	29
b) La vitamine E.....	29
c) Les polyphénols.....	30
d) Les Caroténoïdes.....	31
e) Les oligoéléments.....	31
II.3.Stress oxydant.....	31
II.3.1.Définition.....	31
II.3.2.Origine du stress.....	32
II.3.3.Conséquences du stress oxydant.....	32
II.3.3.1.L'oxydationdes glucides.....	33
II.3.3.2.L'oxydation des protéines.....	33
II.3.3.3.L'oxydation de l'ADN.....	33
II.3.3.4.L'oxydation des lipides.....	33

### Chapitre III : Régulation de la glycémie et le diabète sucré

III .1.Régulation de la glycémie .....	34
III.1.1.Système hypoglycémiant.....	34
III.1.2. Système hyperglycémiant.....	34
III. 2. Diabète sucré.....	35
III.2.1. Définition.....	35
III.2.2. Classification du diabète.....	36
III.2.2.1.Diabète de type1 (DT1).....	36

---

III.2.2.2. Diabète de type 2(DT2).....	37
III.2.2.3. Diabète gestationnel .....	38
III.2.2.4. Autres types de diabète.....	38
III.2.3. Facteurs déclenchant du diabète.....	39
III.2.3.1. Diabète de type1.....	39
III.2.3.2. Diabète de type 2.....	41
III.2.4. Traitement du diabète .....	42
III.2.4.1. Diabète de type1.....	42
III.2.4.2. Diabète de type2.....	43
III.2.4.3. Diabète gestationnel.....	44
III.2.5. Phytothérapie et diabète.....	44

## *Partie II : Etude expérimentale*

### **Chapitre I : Matériel et méthodes**

I.1. Matériel.....	46
I.1.1. Matériel végétal.....	46
I.1.2. Matériel animal.....	47
I.1.3. Produits chimiques utilisés.....	47
I.2. Méthodes.....	48
I.2.1. Broyage.....	48
I.2.2. Préparation des extraits végétaux .....	49
I.2.2.1. Préparation de l'extrait de l'éther de pétrole.....	49
I.2.2.2. Préparation de l'extrait alcoolique.....	50

---

I.2.3.Criblage «Screening» phytochimique.....	53
I.2.3.1. Test des quinones libres.....	53
I.2.3.2. Test des alcaloïdes.....	53
I.2.3.3. Test des tanins.....	53
I.2.3.4. Test des tanins vrais .....	54
I.2.3.5. Test des saponines.....	54
I.2.3.6. Test des stérols et poly-terpènes.....	54
I.2.3.7. Test des flavonoïdes (cyanidine).....	54
I.2.3.8. Test des flavonoïdes glycosides.....	54
I.2.3.9. Test des sucres réducteurs.....	54
I.2.3.10. Test des phénols.....	55
I.2.4. Dosage colorimétrique (spectrophotométrique).....	55
I.2.4.1. Dosage des polyphénols totaux.....	55
I.2.4.2. Dosage des flavonoïdes.....	56
I.2.5. Evaluation de l'activité biologique <i>in vitro</i> .....	57
I.2.5.1. Evaluation de l'activité antioxydante par le radical libre diphényle-picrylhydrazyle (DPPH).....	57
I.2.5.2. Pouvoir réducteur du fer (Test FRAP: Ferric Reducing Antioxydant Power).....	59
I.2.6. Evaluation de l'activité hypoglycémiant et antihyperglycémiant de l'extrait méthanolique de <i>Silybum marianum</i> .....	61
I.2.6.1. Préparation des solutions à base d'extrait brut méthanolique.....	61
I.2.6.2. Protocole expérimental.....	61
I.2.6.2.1. Essais chez des rats normoglycémiques.....	61



I.2.6.2.2. Essais chez des rats en hyperglycémie temporaire.....62

I.2.6.3. Mesures glycémiques.....63

## Chapitre II : Résultats et discussion

II.1. Screening phytochimique.....64

II.2. Dosage spectrophotométrique.....69

II.2.1. Dosage des polyphénols totaux.....69

II.2.2. Dosage des flavonoïdes.....73

II.3. Evaluation de l'activité biologique *in vitro*.....75

II.3.1. Evaluation de l'activité antioxydante par le radical libre diphényle-picrylhydrazyle (DPPH).....76

II.3.2. Pouvoir réducteur du fer (Test FRAP : Ferric Reducing Antioxydant Power).....80

II.4. Evaluation de l'activité hypoglycémiant et antihyperglycémiant de l'extrait méthanolique de *Silybum marianum*.....83

II.4.1. Evaluation de l'activité hypoglycémiant de l'extrait méthanolique de *Silybum marianum*.....83

II.4.2. Evaluation de l'activité antihyperglycémiant de l'extrait méthanolique de *Silybum marianum*.....85

Conclusion générale .....90

Références bibliographiques

Annexe

Résumé

<b>Numéro de tableau</b>	<b>Titre des tableaux</b>	<b>Pages</b>
<b>1</b>	<b>Tableau récapitulatif des caractéristiques botanique de <i>Silybum marianum</i></b>	<b>10</b>
<b>2</b>	<b>Quelques activités biologiques en fonction des composés actifs de <i>Silybum marianum</i></b>	<b>18</b>
<b>3</b>	<b>Gènes impliqués dans les différents diabètes de type MODY</b>	<b>39</b>
<b>4</b>	<b>Mode d'action des principaux hypoglycémiant oraux</b>	<b>43</b>
<b>5</b>	<b>Quelques plantes hypoglycémiantes et leurs mécanismes d'action</b>	<b>45</b>
<b>6</b>	<b>Propriétés chimiques de la metformine (Glucophage®)</b>	<b>63</b>
<b>7</b>	<b>Résultats de criblage phytochimique de l'extrait méthanolique et l'éther de pétrole (graines et feuilles) de <i>Silybum marianum</i></b>	<b>64</b>
<b>8</b>	<b>Teneur des polyphénols d'extrait méthanolique des graines et feuilles exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait</b>	<b>71</b>
<b>9</b>	<b>Teneur des polyphénols d'extrait méthanolique des graines et feuilles exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g de matière sèche</b>	<b>71</b>
<b>10</b>	<b>Teneur des flavonoïdes d'extrait méthanolique des graines et des feuilles</b>	<b>74</b>
<b>11</b>	<b>Les valeurs IC50 d'extrait méthanolique et l'acide ascorbique</b>	<b>78</b>
<b>12</b>	<b>Les valeurs EC50 d'extrait méthanolique et l'acide ascorbique</b>	<b>82</b>
<b>13</b>	<b>Effet de l'extrait méthanolique des graines de <i>Silybum marianum</i> sur la glycémie des rats normo-glycémique</b>	<b>84</b>
<b>14</b>	<b>Effet de l'extrait méthanolique des feuilles de <i>Silybum marianum</i> sur la glycémie des rats normo-glycémique</b>	<b>85</b>
<b>15</b>	<b>Effet de l'extrait méthanolique des graines du <i>Silybum marianum</i> sur la glycémie des rats hyperglycémiques</b>	<b>87</b>
<b>16</b>	<b>Effet de l'extrait méthanolique des feuilles du <i>Silybum marianum</i> sur la glycémie des rats hyperglycémiques</b>	<b>88</b>

<b>Figures</b>	<b>Titres</b>	<b>Pages</b>
<b>1</b>	<b>Photo de <i>Silybum marianum</i></b>	<b>5</b>
<b>2</b>	<b>Morphologie des racines de <i>Silybum marianum</i></b>	<b>6</b>
<b>3</b>	<b>Tiges de chardon Marie</b>	<b>6</b>
<b>4</b>	<b>Feuilles de chardon Marie</b>	<b>7</b>
<b>5</b>	<b>Fleurs de chardon Marie A : fraîches et B : sèches</b>	<b>8</b>
<b>6</b>	<b>Graines de chardon Marie : A, B : libres et C attachés avec leurs aigrettes</b>	<b>8</b>
<b>7</b>	<b>Flavolignanes du chardon-Marie</b>	<b>12</b>
<b>8</b>	<b>Le médicament Legalon® 90mg</b>	<b>19</b>
<b>9</b>	<b>Photo d'un radical libre</b>	<b>20</b>
<b>10</b>	<b>Les sources exogènes des radicaux libres</b>	<b>24</b>
<b>11</b>	<b>Sources endogènes des espèces réactives</b>	<b>25</b>
<b>12</b>	<b>Action des antioxydants au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène</b>	<b>27</b>
<b>13</b>	<b>Structure de la vitamine E</b>	<b>30</b>
<b>14</b>	<b>Structure des polyphénols</b>	<b>30</b>
<b>15</b>	<b>Mécanismes provoquant un stress oxydant au sein d'une cellule</b>	<b>32</b>



16	Les organes effecteurs de la régulation de la glycémie	35
17	Différence entre diabète type 1 et type 2	37
18	Principales perturbations métaboliques dus à l'insulinorésistance	38
19	Lieu de la récolte de <i>Silybum marianum</i>	46
20	Rats <i>Wistar albinos</i> A : Dans des cages B : Avec marquage	47
21	Les graines et feuilles de <i>Silybum marianum</i> après broyage	48
22	Les filtrats étheré A : des graines et B, C : pour les feuilles	49
23	Les filtrats méthanolique A : des graines et B, C, D : pour les feuilles	50
24	Les extraits bruts A : des graines et B, C : pour les feuilles	51
25	Protocole d'étude expérimentale	52
26	Structure de l'acide gallique(acide 3, 4,5-trihydroxybenzoïque)	55
27	Structure de la rutine	56
28	Réaction de réduction de DPPH•	57
29	Protocole de l'activité antioxydante	58
30	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe ferricyanide ferrique Fe(III) et un antioxydant (AH)	59
31	Protocole du Pouvoir réducteur	60
32	Solutions des graines et feuilles à différentes concentrations	61
33	Injection intra-péritonéale de l'extrait méthanolique	62

34	<b>La mesure de la glycémie</b>	<b>63</b>
35	<b>Courbe d'étalonnage de l'Acide gallique</b>	<b>69</b>
36	<b>Dosage des polyphénols</b>	<b>70</b>
37	<b>Résultats de dosage des polyphénols totaux d'extrait méthanolique des graines et feuilles</b>	<b>70</b>
38	<b>Teneurs en phénols totaux pour les deux parties de la plante étudiée</b>	<b>72</b>
39	<b>Courbe d'étalonnage de la rutine</b>	<b>73</b>
40	<b>Résultats de dosage des flavonoïdes des extraits méthanolique A: graines. B: feuilles</b>	<b>74</b>
41	<b>Teneurs en flavonoïdes pour les deux parties de la plante étudiée</b>	<b>75</b>
42	<b>Courbe de pourcentage d'inhibition de l'extrait méthanolique des graines</b>	<b>76</b>
43	<b>Courbe de pourcentage d'inhibition de l'extrait méthanolique des feuilles</b>	<b>77</b>
44	<b>Résultats d'activité anti-oxydante des extraits méthanolique de la plante à différentes concentrations : A: graines, B: feuilles (Photos originaux).</b>	<b>77</b>
45	<b>IC50 de l'acide ascorbique et des extraits méthanoliques (graines et feuilles)</b>	<b>78</b>

<b>46</b>	<b>Résultats de pouvoir réducteur des extraits méthanolique de la plante à différentes concentrations : A: graines, B: feuilles (Photos originaux)</b>	<b>80</b>
<b>47</b>	<b>Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique</b>	<b>81</b>
<b>48</b>	<b>Pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique de <i>Silybum marianum</i></b>	<b>81</b>



<b>Abréviation</b>	<b>Signification</b>
<b>m</b>	<b>Mètre</b>
<b>cm</b>	<b>Centimètre</b>
<b>mm</b>	<b>Millimètre</b>
<b>Kg</b>	<b>Kilogramme</b>
<b>%</b>	<b>Pourcentage</b>
<b>Me</b>	<b>Le Groupe méthyle</b>
<b>g</b>	<b>Gramme</b>
<b>Ald</b>	<b>Alcoholic liver diseases</b>
<b>Hmg-Coa Réductase</b>	<b>Hydroxy-Méthyl-Glutaryl-Coenzyme A Réductase</b>
<b>VHC</b>	<b>Virus de l'hépatite C</b>
<b>VIH</b>	<b>Virus de l'immunodéficience humaine</b>
<b>g/Kg</b>	<b>Gramme par kilogramme</b>
<b>OMS</b>	<b>Organisation Mondiale de la Santé</b>
<b>AG</b>	<b>Acides gras</b>
<b>AA</b>	<b>Acides aminées</b>
<b>TG</b>	<b>Triglycérides</b>
<b>g/l/</b>	<b>Gramme par litre</b>
<b>mmol/L</b>	<b>Millimoleparlitre</b>
<b>Dsg</b>	<b>Diabète sucré gestationnel</b>
<b>Mody</b>	<b>Maturity onset diabetes of the young</b>
<b>Hnf-4<math>\alpha</math></b>	<b>Hepatocytenuclear factor 4<math>\alpha</math></b>
<b>Gck</b>	<b>Glucokinase</b>
<b>Ipf-1</b>	<b>Insulinpromoter Factor-1</b>
<b>Neuro D1</b>	<b>Neurogenicdifferentiation 1</b>
<b>Klf11</b>	<b>Kruppel Like Factor 11</b>
<b>Cel</b>	<b>Carboxyl-Ester Lipase</b>
<b>Pax4</b>	<b>Paired box 4</b>
<b>INS</b>	<b>Insuline</b>
<b>BLK</b>	<b>B Lymphoid tyrosine kinase</b>
<b>ADN</b>	<b>Acide désoxyribonucléique</b>

<b>HLA</b>	<b>Human leucocyte antigen</b>
<b>β</b>	<b>Bêta</b>
<b>ROS</b>	<b>Espèces réactifs d'oxygène</b>
<b>NADPH</b>	<b>Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate</b>
<b>SOD</b>	<b>Superoxyde dismutase</b>
<b>O<sub>2</sub></b>	<b>Dioxygène</b>
<b>Uv</b>	<b>Radiations ultraviolet</b>
<b>OH</b>	<b>Hydroxyde</b>
<b><sup>1</sup>O<sub>2</sub></b>	<b>Oxygène singulet</b>
<b>GPx</b>	<b>Glutathion peroxydase</b>
<b>GSH</b>	<b>Glutathion réduit</b>
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<b>Peroxyde d'hydrogène</b>
<b>GSSG</b>	<b>Le dissulfure de Glutathion</b>
<b>C<sub>0</sub>q10</b>	<b>Coenzyme Q10(Ubiquinone)</b>
<b>Gc-Ta</b>	<b>Guanine,Cystéine-Thymine,Adénine</b>
<b>LDL</b>	<b>Lipoprotéine de basse densité</b>
<b>°C</b>	<b>Degré celsius</b>
<b>NaOH</b>	<b>Sodium hydroxyde</b>
<b>ml</b>	<b>Mililitre</b>
<b>h</b>	<b>Heure</b>
<b>HCl</b>	<b>Acide chlorhydrique</b>
<b>FeCl<sub>3</sub></b>	<b>Chlorure de fer</b>
<b>min</b>	<b>Minute</b>
<b>KOH</b>	<b>Hydroxyde de potassium</b>
<b>μl</b>	<b>Microlitre</b>
<b>nm</b>	<b>Nanomètre</b>
<b>AlCl<sub>3</sub></b>	<b>Trichlorure d'aluminium</b>
<b>M</b>	<b>Molaire</b>
<b>Tr/min</b>	<b>Tour par minute</b>
<b>mg EAG/g d'extrait</b>	<b>Milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait</b>
<b>mg ER/g d'extrait</b>	<b>Milligramme équivalent rutine par gramme d'extrait</b>



*Introduction  
générale*

## **Introduction**

Les plantes médicinales sont utilisées depuis des siècles comme remède à diverses maladies humaines. Ces plantes doivent leur pouvoir thérapeutique à des substances, dites alors actives, qu'elles renferment. Pour l'évaluation de l'activité biologique de ces plantes, il est impératif de recourir à des tests biologiques appropriés et à des méthodes de screening chimique.

Dans la plupart des cas, l'activité biologique des métabolites secondaires est reconnue bien avant la détermination de leurs structures chimiques. Il est néanmoins important de noter que la nature active de ces composés peut engendrer des effets bénéfiques, aussi bien que des effets néfastes, sur les organismes vivants (**Lehout. R et Laib. M, 2015**).

La région méditerranéenne, en dépit de sa localisation dans une zone tempérée loin de la biodiversité des hotspots "points chauds", possède des zones biogéographiques parmi les plus rares au monde et une biodiversité de première importance avec beaucoup de plantes d'intérêt thérapeutique (**Myers. N , 2000**).

L'Algérie dispose d'une grande diversité floristique à laquelle s'ajoute une tradition séculaire d'utilisation traditionnelle des plantes. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% sont endémiques. (**Quezel. P et Santa. S, 1963**).

Dans le cadre de notre mémoire, nous avons entrepris une approche phytochimique et activités biologiques « *in vitro* » et « *in vivo* » d'une plante médicinale algérienne *Silybum marianum* (chardon marie). Cette dernière est une plante annuelle ou bisannuelle de la famille des Asteraceae, endémique de la région méditerranéenne (**Beniston NT et Beniston WS.1984**).

Elle est utilisée pour la prévention et le traitement de divers troubles hépatiques : hépatite, cirrhose, calculs biliaires, ictère (jaunisse) et dommages causés au foie par des substances toxiques. De l'avis des cliniciens qui s'en servent dans leur pratique, la silymarine peut régénérer les tissus abîmés du foie en plus de protéger cet organe contre les effets des toxines naturelles (champignons, venin de serpent, piqûres d'insectes, alcool, etc.) ou synthétiques (solvants, produits de nettoyage, médicaments, etc.) (**Benmarce.Y et al, 2016**).

Dans ce contexte et notamment dans le cadre de notre recherche qui est l'étude des plantes médicinales, notre choix était basé sur la détermination de quelques propriétés biologiques de la plante *Silybum marianum* et la collecte des informations sur la richesse en principes actifs (flavonoïdes ,tanins.....).

Ce travail est scindé en deux parties :

La première partie consacrée à l'étude bibliographique est divisé en trois chapitres :

- 1- La description botanique abordée de l'espèce étudiée
- 2- Donner des informations sur le stress oxydant,
- 3- La régulation de la glycémie et le diabète sucré.

La deuxième partie est une étude expérimentale composée de 3 volets :

**1** -Evaluation de l'activité biologique *in vitro*

- Criblage phytochimique
- Caractérisation quantitative de l'extrait méthanolique de graines et de feuilles du *Silybum marianum*
- Evaluation de l'activité antioxydante (DPPH-FRAP)


**2** - Evaluation de l'activité biologique *in vivo*

- L'activité hypoglycémiant
- L'activité antihyperglycémiant

**3**- Une conclusion synthétisera l'ensemble des résultats obtenus et évoquera les limites et les perspectives notre travail.

***Partie I :***  
***Etude bibliographique***





**Chapitre I**  
**Etude botanique**  
**de la plante**

## I. 1. Historique

Cette plante médicinale a une longue histoire puisqu'elle est déjà citée par Théophraste, puis par Dioscoride qui lui donna le nom de *Silybum* (du mot grec «sillybon» qui veut dire touffe). La plante est citée dans la Bible et dès le Moyen-Âge, elle est cultivée dans les monastères et utilisée en médecine (**Hostettmann. K, 1997**).

*Marianum* est un mot latin qui vient d'une légende du moyen âge au sujet de la vierge Marie (**Alaoui ismaili.s, 2016**). Lors son voyage de l'Égypte vers la Palestine, la Vierge Marie voulant dissimuler son enfant Jésus aux troupes d'Hérode le Grand, l'aurait déposé dans les larges feuilles de chardon Marie. D'après cette légende, les taches blanches au niveau des nervures des feuilles caractéristiques de l'espèce sont des traces 'héréditaires' qui proviendraient des gouttes de lait de la Vierge Marie (**Ben rahal. N, 2012**).

Cette légende est peut-être également à l'origine d'une indication traditionnelle dont l'efficacité n'a jamais été démontrée et qui voulait que la plante favorise la lactation (**Luper. S, 1998 ; Pizzorno. JE Jr et Murray Michael. T ,1999**).

## I.2. Noms de la plante

**Nom botanique :** *Silybum marianum* (L.) Gaertn, *Carduus marianus* L., *Carthamus maculatus* Lmk (**Fournier. P, 2010**).

### Nom vernaculaire français :

Chardon-Marie, Chardon marbré, Chardon argenté, Chardon de Notre-Dame, lait de notre dame, Silybe de marie, épine blanche (**Messegue .M, 1975 ; Peris et al, 1996**), artichaut sauvage (**Fournier. P, 2010**).

### Nom vernaculaire arabe:

Chouk el djemel, Bou-zeroual ou Sûkez-zerwal, Bû-zerwal, Hacoub et Lichilic (**Neger, 1961** cités par **Bel khada. J, 1997**) (**Messegue. M, 1975**) (**Beniston. NT et Beniston. WS, 1984**) (**Beloued ,1998**). Shawk eddiman, Shawk en nassara, Hharshaf barri (**Qavami. N et al, 2013**).

**Nom vernaculaire targui ou berbère :**

Tawra, Douj-n'ilour man (Messegue. M, 1975)(Beniston. NT et Beniston. WS, 1984)  
(Gharb et Bertrand, 1991 cités par Bel khada. J, 1997).

**Les noms étrangers :** en allemand *Mariendistel*, en anglais *Milk thistle (Blessed milk thistle)*, en castillon *cardo lechoso*, en italien *Cardo mariano (Cardo di santa maria)*, en chinois *Shui Fei Ji* (Michael, 2003), en persan: Mary thiqal, Kharmariam (Qavami. N et al, 2013).

### I.3. Systématique

La systématique du chardon marie selon Deysson. G, (1979) ; Guignard .J.L, (1998) ; Spichiger et al, (2000), est comme suit :

**Règne:** Plantae

**Embranchement :** Phanérogames

**Sous-embranchement :** Angiospermes

**Classe :** Magnoliopsida

**Ordre :** Asterales

**Famille :** Asteraceae (Composées)

**Sous-famille :** Tubuliflores

**Genre :** *Silybum*

**Espèces :** *Silybum marianum*(L). Gaerthn

### I.4. Origine et habitat

*Silybum marianum* est une plante endémique de la région méditerranéenne (Hauf. M, 1982 ; Guittonneau. G et Huon. A, 1983 ; Volak. J et Stodola. J, 1984).

Elle s'étend de la mer à 700-1100 m d'altitude sur les terrains incultes secs et rocailloux de toute l'Europe occidentale (au nord jusqu'au Danemark) et méridionale, ainsi qu'en Afrique du Nord (Bayer. E et Buller. K.P, 1990 ; Caremes. C, 1990 ; Morazzoni. P et Bombardelli. E, 1995). Le chardon marie est également cultivé dans les jardins ornementaux (Roche. C, 1991).

Cette plante est cosmopolite, préfère les sols secs et les endroits chauds et ensoleillés.

On la trouve dans les champs, les terrains incultes, les décombres et les bords des routes (Quézel. P et Santa. S, 1963 ; Guittonneau.G et Huon.A, 1983 ; Beniston. NT et Beniston. WS, 1984).

En Algérie *Silybum marianum* est particulièrement répandue dans les hauts plateaux, la steppe, le sud de l'Atlas saharien, les pâturages sablonneux et les lieux un peu humides (Quézel. P et Santa. S, 1963).

*Silybum marianum* est aujourd'hui répandue en Amérique du Nord, si bien qu'on le trouve tant au Canada qu'au Mexique, la Nouvelle-Zélande, l'Australie, l'Afrique du Sud, le Chili et l'Argentine (Sindel. BM, 1991 ; Gabay et al ,1994).

### I.5.Description morphologique

Mêlés à toutes les autres plantes qui foisonnent le long des champs et des routes, dont beaucoup sont aussi imposantes qu'eux, les chardons marie se reconnaissent à leurs belles têtes violacées qu'entourent les collerettes un peu défraîchies de leurs longues bractées épineuses (Figure 1)(Beniston. NT et Beniston. WS, 1984 ; Luper. S, 1998 ; Pepping. J, 1999). *Silybum marianum* ne dégage pas d'odeur particulière et se distingue par une saveur d'artichaut (Charrié. JC et al, 2017).



Figure 1 : *Silybum marianum* (photo originale)

➤ **Racines**

La plante est caractérisée par une racine pivotante, forte, longue, épaisse et fibreuse (**Figure 2**) (Sindel. BM, 1991 ; Vincent. R, 1999-2000).



**Figure 2** : Morphologie des racines (Alaoui ismaili.S, 2016)

➤ **Tiges**

Généralement ramifiée, atteignant environ 20 à 150 cm de haut, porte peu de feuilles sur la partie supérieure (Hauf. M, 1982 ; Guittonneau.G et Huon.A, 1983 ; Caremes. C, 1990), glabre (sans épines, à la différence d'autres chardons) (**Figure 3**) ([www.medicunaplanta.com](http://www.medicunaplanta.com)).



**Figure 3** : Tiges de chardon Marie (Benrahal. N, 2012)



➤ Feuilles

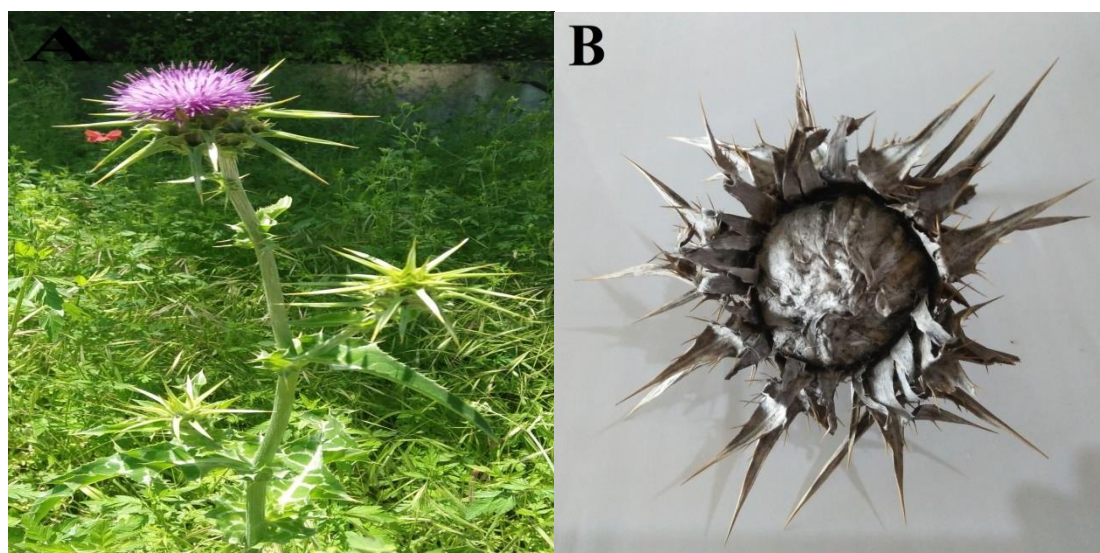
Les feuilles oblongues, pennatilobées, sont caractérisées par une marge ondulée à bord épineux et une couleur vert pâle luisant, ponctué de marbrures blanches le long des nervures. Les feuilles supérieures sont engainantes (**Figure 4**)(Charrié. JC et al, 2017).



**Figure 4** : Feuilles de chardon Marie (**Photos originaux**)

➤ Fleurs

Elles sont toutes tubuleuses réunies en capitules terminaux, solitaires, dépassant souvent 6cm de diamètre, dont la plupart sont pourvues d'une forte épine atteignant jusqu'à 5cm et se réfléchissant vers l'arrière (**Guittonneau.G et Huon.A, 1983 ; Caremes. C, 1990**). La corolle est dentée de couleur pourprée, 5 étamines formant un tube autour du style (**Figure 5**) (**Guignard. JL, 1998**).



**Figure 5** : Fleurs de chardon Marie **A** : fraîches et **B** : sèches (Photos originaux)

### ➤ Fruit

Les fruits sont des akènes luisants, de 6 à 7 mm, plats, lisses, et brillants et la couleur s'étend du noir au brun chiné ou marbré de jaune, surmontés d'une aigrette blanche (Guillonnet, G et Huon, A, 1983). Les graines ont une aigrette, tombent quand les graines mûrissent (Figure 6) (Sindel, BM, 1991).



**Figure 6** : Graines de chardon Marie : **A**, **B** : libres et **C** attachés avec leurs aigrettes (Photos originaux)

## I.6. Cycle de vie

Le *Silybum marianum* est, du point de vue écologique, un végétal xérophile (adapté aux climats secs), nitrophile (préférence pour les milieux riches en azote) et thérophyte (poussant pendant la saison froide à l'état de graine) (Messegue. M, 1975), une espèce diploïde avec  $2n = 34$  chromosomes. Cinq de ces chromosomes sont de type "métacentrique", "sub métacentrique" et "acrocentrique" (Qavami. N et al, 2013).

Le chardon Marie est une plante **annuelle**. La germination se produit en général en automne et survient au début de la saison de croissance. Lorsqu'il se produit un retard de la saison de printemps ou encore d'hiver, elle change et devient une plante **bisannuelle** (Messegue. M, 1975). Les basses températures de l'hiver favorisent l'apparition des fleurs qui forment les bourgeons de la plante. Ces derniers donnent 55 capitules en moyenne et 190 grains soit environ 6350 grains pour une seule plante (Burnie .G, 1997).

Les graines peuvent entrer en état de dormance, cependant n'importe quelle longueur de dormance est affectée par la température et l'humidité (Dodd. G, 1989) ; elles restent viables pendant neuf années, ou plus (Sindel.BM, 1991).

La floraison débute dès le mois de juin jusqu'au mois d'août. C'est une floraison basée sur une inflorescence de type racème de capitule. A la fin de l'été, les graines sont complètement séchées. La pollinisation est autogame (par autofécondation) ou encore entomogame (la fécondation se fait par divers moyens : les insectes, le vent, etc). Le *Silybum marianum* est une espèce hermaphrodite (ayant des organes reproducteurs des deux sexes mâle et femelle) (Tableau 1) (Guittoneau.G et Huon.A, 1983).

La croissance et l'allélopathie végétales fortes pendant la germination pourraient expliquer la forte densité du chardon Marie (Gabay.R et al, 1994).



**Tableau 1 :** Tableau récapitulatif des caractéristiques botanique de *Silybum marianum* (Burnie.G, 1997)

<b>Type d'inflorescence</b>	Racème de capitule
<b>Répartition des sexes</b>	Hermaphrodite
<b>Type de pollinisation</b>	Entomogame, autogame
<b>Période de floraison</b>	juin à août
<b>Type de fruit</b>	Akène
<b>Mode de dissémination</b>	Anémochore
<b>Type d'habitat</b>	Friches vivaces
<b>Aire de répartition</b>	Méditerranée

### I.7. Conditions de croissance et de développement

Pour que les principes actifs des molécules des fruits soient plus concentrés, il faut semer les plantes en automne et au printemps; car la température idéale de germination se situe autour de deux à quinze degrés Celsius. Ainsi, il faut respecter la profondeur (3 cm ou plus dans le sol) et l'espace des graines (25 cm à 50 cm); moins de graine émergente, le rendement à l'hectare est donc moins important (Montemurro .P et al, 2007).

Les conditions environnementales (les densités des plantes, l'irrigation, les apports d'intrants), et les facteurs génétiques (interactions entre le génotype et l'environnement modifiant le phénotype) peuvent agir sur la croissance du chardon Marie en général et sur la concentration en silymarine des akènes en particulier (Karkanis. A et al ,2011).

Par ailleurs, en période de culture, l'irrigation n'est pas en général nécessaire sauf en cas de sécheresse intense. Une étude réalisée par Andrzejewska et al. rapporte que dans une région où les précipitations ont été de 180 mm au total sur toute la période de pousse des plants de *Silybum marianum*, le rendement a été compris entre 550 et 1680 kg de plante à l'hectare et de 13,3 à 35,4 kg de silymarine produite à l'hectare malgré les faibles précipitations (Andrzejewska J et al, 2011).

## I.8. Composition chimique de la graine

### ✚ Flavolignanes

Les constituants responsables de l'activité sont des flavanolignanes — on dit aussi parfois flavonolignanes ou encore flavolignanes, mais il serait, semble-t-il, plus correct de parler de dihydroflavonolignanes — initialement isolés sous la forme d'un mélange de produits d'addition de l'alcool coniferylique sur un 2,3-dihydro-flavonol, la taxifoline.

Ce mélange, communément dénommé *silymarine*, représente de 1,5 à 3 % de la masse du fruit.

La silibinine (ou silybine), constituant majoritaire du mélange (60-80 %), est un benzodioxane, mélange de deux diastereoisomeres, accompagnes de leurs regioisomeres (isosilybines A et B). Les autres constituants de la *silymarine* sont la silydianine, un oxatricyclodécene résultant de la cyclo addition de l'alcool coniferylique sur l'*o*-quinone dérivée de la taxifoline, et la silychristine, a structure dihydrobenzofurannique. Dans d'autres variétés (par exemple chez une variété a fleurs blanches) ces produits peuvent être accompagnes des dérivés 3-desoxy des regioisomeres de la silybine (silandrine) et de la silydianine (silymonine) (Bruneton.J, 2016).

La silybine, silydianine et silychristine sont peu solubles dans l'eau (Figure 7) (Fleurentin.J,2013).

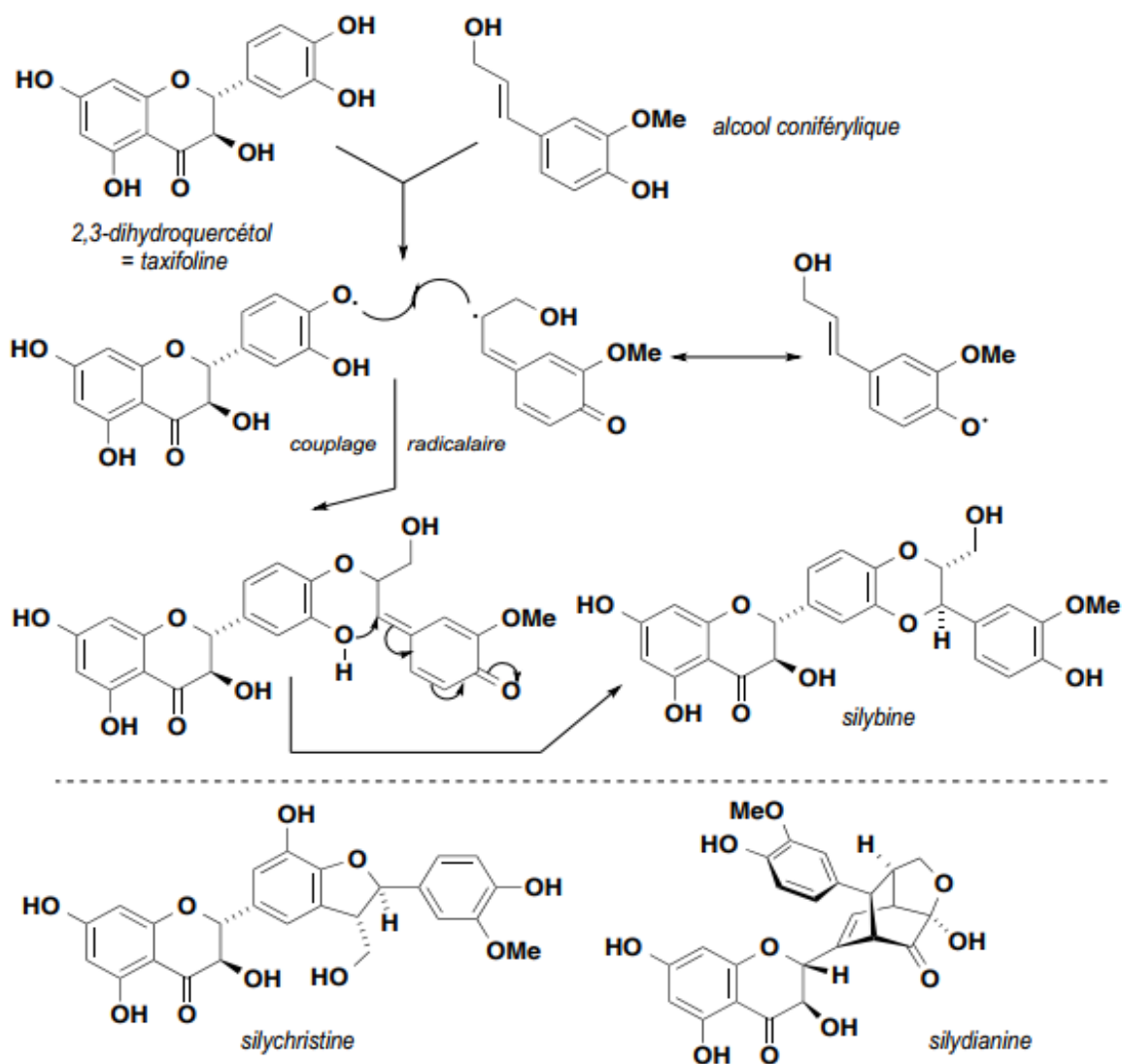


Figure 7 : Flavonolignanes du chardon-Marie (Bruneton. J, 2016)

- ✚ **Flavonoïdes** : quercétol, taxifoline, ériodyctiol, chrysoériol, naringine, kaempféroldihydrokaempférol, apigénol, naringétol... (Charrié. JC et al, 2017)
- ✚ **Dérivés phénoliques** : 5,7-dihydroxychromones, alcool dihydroconiférylique. (Charrié. JC et al, 2017)
- ✚ Dans l'akène du chardon-marie, on trouve aussi 15 à 30 % d'acides gras dont environ 60 % d'acide linoléique, 30 % d'acide oléique et 9 % d'acide palmitique, environ 25 à 30 % de protéines (la tyramine et de la bêtaïne...) ainsi que du tocophérol (0.038 % environ), et des stérols (0.063 % environ) dont du campestérol, du stigmastérol, et du

sitostérol. Quelques sucres (arabinose, rhamnose, xylose, glucose) et du mucilage sont aussi présents (**Mouillé-richard.THM, 2014**), les saponines (**Hostettmann. K, 1997 ; ANPA, 2015**).

Le chardon Marie présente des teneurs élevées en calcium dans tous les organes du végétal (feuilles, graines, tige, racines) ce qui donne à cette plante une valeur alimentaire très importante. Le phosphore reste le minéral qui distingue les graines de chardon Marie avec une teneur de 0,6 g.kg-1MS (matière sèche) plus élevée que celle des feuilles et de la tige (respectivement 0,2 et 0,15 g.kg-1MS). Les feuilles se distinguent par des teneurs importantes en sodium, en magnésium et en calcium alors que la tige est riche en potassium (**Benrahal. N, 2012**).

Cette plante contient aussi du tanin, un principe amer mal connu (**Fournier. P,2010**).

### **I.9.Applications pharmacologiques**

Les principes actifs pharmacologiques présents dans les fruits du chardon-Marie sont collectivement connus sous le nom de silymarine (**Qavami. N et al, 2013**) et elle a été isolée pour la première fois en 1968, sa formule moléculaire est( $C_{25}H_{22}O_{10}$ ) et son poids moléculaire est de **(482,45 g)**(**Alaoui ismaili.S, 2016**).

La silibinine (silybine) semblerait procurer la plus grande activité pharmacologique des constituants de la silymarine (**Benmarce .Yet al, 2016**).

Le chardon-Marie est utilisé à des fins médicinales multiples, en raison de ses diverses caractéristiques physiologiques.

La recherche a confirmé que la silymarine extraite des fruits du chardon-Marie peut protéger les cellules saines du foie de la détérioration, aidant à nettoyer et à désintoxiquer, et contribuant à la régénération des cellules endommagées (**Qavami. N et al, 2013**)(De façon surprenante, la silybine agit sur la synthèse des protéines seulement lorsque le foie a subi des lésions)(**www.nutranews.org**).

Différents composants du chardon-Marie (silymarine, silybine, etc.)(**Tableau 2**) ont de multiples mécanismes d'action hépatoprotecteurs, dont l'activité anti-inflammatoire, l'activité antioxydante, le blocage des toxines, la synthèse protéique et l'activité anti-fibrotique (**Qavami. N et al, 2013**).

### ✓ Propriétés antioxydantes

Les propriétés antioxydantes du chardon-Marie ont été évaluées en étudiant sa capacité à réagir avec des ROS ou des oxydants biologiques pertinents tels que le radical anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), le radical hydroxyle ( $\cdot OH$ ) et l'acide hypochloreux (HOCL).

Kiruthiga et *al* ont montré que l'administration de silymarine augmente les activités des enzymes antioxydantes comme la superoxyde dismutase (SOD), la catalase, la glutathion peroxydase (GPx), la glutathion réductase (GR) et la glutathion s-transférase (GST) avec une diminution des taux de malondialdéhyde (MDA), un marqueur de la peroxydation lipidique, dans les érythrocytes exposés à  $H_2O_2$  (Qavami. N et *al*, 2013).

Enfin, la silybine protège les tissus des lésions induites par le fer. Une surcharge en fer est dangereuse car le fer catalyse différents radicaux libres avec, pour conséquence, une peroxydation des lipides membranaires. Le foie est le premier site où le fer exerce ses activités destructrices. Les activités antioxydantes de la silybine aident à protéger de la toxicité du fer. De plus, un certain nombre de données scientifiques suggèrent que la silybine agit comme un chélateur du fer, se liant au fer libre et facilitant ainsi son élimination par la bile ([www.nutranews.org](http://www.nutranews.org)).

### ✓ Activité anti-inflammatoire

Les effets anti-inflammatoires de la silymarine sont liés à l'inhibition du facteur de transcription nucléaire  $\kappa B$  (NF- $\kappa B$ ), qui régule et coordonne l'expression de différents gènes impliqués dans l'inflammation, la survie cellulaire, la différenciation et la croissance (Qavami. N et *al*, 2013).

### ✓ L'empoisonnement aux champignons

La silymarine est un antagoniste de nombreux modèles de substances induisant des lésions hépatiques comme les toxines de l'*Amanita*, les lanthanides, les tétrachlorures de carbone ( $CCl_4$ ), la galactosamine, le thioacétamide et le virus  $FV_3$  de l'hépatite des animaux à sang froid (Anton .R, 2003).

L'utilisation la plus remarquable de la silymarine est dans le traitement de l'empoisonnement aux champignons *Amanita phalloïdes* (Amanite phalloïde). Les champignons *Amanita* possèdent deux hépatotoxines extrêmement puissantes, l'amanitine et la phalloïdine. Des lésions hépatiques sévères (et la mort) ont été évitées si la silymarine était administrée dans les 24 heures (Qavami. N et al, 2013).

Des études animales suggèrent que l'extrait de Chardon-Marie peut avoir une action protectrice contre un grand nombre d'autres substances toxiques allant du toluène à des médicaments comme l'acétaminophène (paracétamol)([www.nutranews.org](http://www.nutranews.org)).

#### ✓ **Maladies alcooliques du foie**

Dans les maladies alcooliques du foie (ALD), la silymarine exerce des effets hépatoprotecteurs en atténuant la production de facteur de nécrose tumorale (TNF) avec diminution de l'activité de l'alanine aminotransférase sérique (ALT), inhibition de la peroxydation lipidique, et l'augmentation de la teneur en glutathion réduit intracellulaire dans le modèle murin d'ALD.

Une étude en double aveugle a été réalisée chez des patients souffrant d'une maladie hépatique alcoolique chronique. Le résultat a démontré que la bilirubine sérique, les valeurs de l'aminotransférase et l'activité de la gamma-glutamyl-transférase (GGT) étaient normalisées dans le groupe silymarine (Qavami. N et al, 2013).

#### ✓ **Activité anticancéreuse**

La carcinogenèse est un processus en plusieurs étapes qui est activé par l'expression altérée des facteurs transcriptionnels et des protéines impliquées dans la prolifération, la régulation du cycle cellulaire, la différenciation, l'apoptose, l'angiogenèse, l'invasion et la métastase.

La silymarine et la silybine modulent le déséquilibre entre la survie cellulaire et l'apoptose par l'interférence avec les expressions des régulateurs du cycle cellulaire et des protéines impliquées dans l'apoptose.

L'activité anticancéreuse de la silymarine a été démontrée dans le cancer du sein humain, cancer de la peau, cancer de la prostate, cancer du col de l'utérus, cancer du côlon, cancer des

ovaires, carcinome hépatocellulaire, le cancer de la vessie, et les cellules cancéreuses pulmonaires (Qavami. N et al, 2013).

✓ **Effets antibactériens**

Le chardon-Marie et sa Silybine constitutive ont une activité antibactérienne efficace contre les bactéries Gram positif sans activité hémolytique, alors qu'il n'a pas d'activité antimicrobienne contre les bactéries Gram négatives ou les champignons (Priyanka.T et al, 2017).

✓ **Activité antidiabétique**

La propriété de silymarine dans la réduction de la glycémie à jeun et le niveau d'insuline a soutenu son utilisation comme un composé antihyperglycémique. Les puissantes activités hypoglycémiques et antihyperglycémiques d'un extrait aqueux de chardon-Marie ont également été démontrées dans des modèles animaux expérimentaux de diabète (Qavami. N et al, 2013).

✓ **Activité hépatoprotectrice**

La silymarine a été utilisée pendant des siècles comme hépatoprotecteur. Ces effets ont été attribués à la capacité antioxydante directe et / ou indirecte de la silymarine, comme étant un capteur d'espèces réactives de l'oxygène, piègeur de radicaux cétyle phénylglyoxylique, antioxydant de rupture de chaîne (Qavami. N et al, 2013).

✓ **Activité hypocholestérolémiant**

L'étude de l'influence de la silymarine et de sa fraction polyphénolique sur les rats nourris avec un régime riche en cholestérol a montré que la silymarine réduit les taux de cholestérol dans le foie et le plasma des rats.

L'activité hypocholestérolémiant de la silymarine sur la base de preuves expérimentales montrant que la silybine inhibe l'activité de la HMG-CoA réductase (hydroxy-méthyl-glutaryl-coenzyme A réductase) *in vitro*; et silymarine amélioré la liaison des lipoprotéines de basse densité (LDL) aux hépatocytes de rat, diminué la teneur en cholestérol du foie chez les lapins nourris avec un régime riche en cholestérol, diminué les taux de cholestérol

plasmatique et les taux de LDL cholestérol chez les rats hyperlipémiques. L'influence de la silymarine et de la fraction polyphénolique (PF) de la silymarine sur l'absorption du cholestérol chez des rats nourris avec un régime riche en cholestérol (HCD) a été étudiée. La silymarine et le PF ont significativement réduit l'absorption du cholestérol chez les rats nourris avec des HCD et provoqué des diminutions significatives de la teneur en cholestérol et triacylglycérol (TAG) dans le foie. Ces résultats suggèrent que l'inhibition de l'absorption du cholestérol par la silymarine et sa fraction polyphénolique pourrait être un mécanisme contribuant aux changements positifs du profil lipoprotéique du cholestérol plasmatique et de la teneur en lipides dans le foie (Qavami. N et al, 2013).

#### ✓ Propriétés antivirales

Des propriétés antivirales de la silymarine et de certains composés isolés comme la silybine, l'isosilybine A et la taxifoline ont été mises en évidence *in vitro* pour différents virus comme le virus influenza A, le VHC ou le VIH.

La silymarine et la silybine inhibent la réplication du VHC *in vitro* sur cultures d'hépatocytes en agissant sur les niveaux d'expression de TNF $\alpha$  et NF- $\kappa$ B.

Concernant le VIH, la silymarine appliquée pendant la phase d'adsorption du virus bloque l'infection des lymphocytes T 101 et la silybinine atténue les fonctions cellulaires impliquées dans l'activation, la prolifération des lymphocytes T et la réplication du VIH-1.

La silymarine interfère avec le mécanisme d'endocytose, retarde la pénétration du virus dans la cellule et empêche sa prise en charge par la transferrine (Charrié. JC et al, 2017).

#### ✓ Propriétés cholagogues

Un effet cholagogue est observé avec des extraits alcooliques de la plante.

L'administration par voie intragastrique chez le rat, un extrait acétonique du fruit augmente le volume et la concentration de la bile excrétée (Charrié. JC et al, 2017).



**Tableau 2:** Quelques activités biologiques en fonction des composés actifs de *Silybum marianum*

Composés actifs du Chardon Marie	Activités Biologiques
<ul style="list-style-type: none"> <li>Flavonoïdes</li> </ul>	Diurétique, anti-azotémique, antispasmodique, anti-ulcère gastrique, anti-inflammatoire (Li et al, 1999).
<ul style="list-style-type: none"> <li>Flavonoïdes</li> </ul>	Inhibe l'agrégation plaquettaire <i>in vitro</i> (Blache. D, 2001).
<ul style="list-style-type: none"> <li>Flavonols</li> <li>Catéchols</li> </ul>	Réduit les risques coronariens (Guibault T, 2001).
<ul style="list-style-type: none"> <li>Silymarine</li> </ul>	Traitement des maladies hépatiques ; Neutralise l'hépatotoxicité de la phalloïdine et l'amanitine (Fraschini .DF, Demartini .G, Esposti .D, 2002). Réduit l'accumulation de collagène dans le foie chez les rats ; Effet positif sur le diabète induit par l'alloxane chez les rats (Muriel .P, Moreno .MG, Hernández. MDC, Chávez. E, Alcantar .LK, 2005).
<ul style="list-style-type: none"> <li>Flavanolignanes : Silandrine, 3deoxysilychristine, Silibinine, Silymonine, Silydianine</li> <li>Quercétol</li> </ul>	Provoque la peroxydation membranaire responsable de l'activité antioxydante. (Hikino .H, Kiso .Y, Wagner. H, Fiebig. M, 1984).
<ul style="list-style-type: none"> <li>Silymarine</li> </ul>	Protection du pancréas exocrine de la toxicité (Von Schönfeld .J, Weisbrod .B, Müller. MK, 1997).
<ul style="list-style-type: none"> <li>Flavonol</li> <li>Quercétol</li> </ul>	Propriétés antioxydantes, (Chlopcíková .S, Psotová .J, Míketová. P, Simánek. V, 2004). Propriétés de protection cellulaire (Münter. K, Mayer .D, Faulstich .H, 1986).

### I.10. Toxicité

Aucune toxicité aiguë, subaiguë ou chronique connue (même après administration de 20 g/kg de silymarine per os chez la souris). Le Chardon-Marie est considéré comme non toxique aux doses généralement préconisées.

Pour rappel, la silymarine est prioritairement excrétée par la bile sous forme de sulfo- et glucuroconjugués (20 à 40 % en 24 heures) et par le rein (3 à 7 %) sans aucune accumulation.

Par manque de données, le Chardon-Marie est déconseillé par les instances officielles (OMS):

– Chez la femme enceinte ou allaitante, et ceci malgré son indication traditionnelle pour favoriser l'allaitement !

– Chez l'enfant sans surveillance médicale. Il faudra également tenir compte des propriétés cholagogues de la plante et donc du risque de migration de lithiase vésiculaire (**Charrié. JC et al , 2017**).

### I.11.Utilisation

En médecine traditionnelle, Les Grecs anciens utilisaient la plante de *silybum marianum* pour guérir les troubles digestifs, hépatiques et biliaires (**Alaoui ismaili.S, 2016**).


Paracelse au XVI<sup>e</sup> siècle préconisait le chardon-Marie contre les brûlures intérieures et Gerarde un siècle plus tard contre les maladies de la mélancolie .Les feuilles ont été employées, surtout aux Etats-Unis pour donner de l'appétit et stimuler la digestion. Lorsqu'elles sont tendres et charnues, les racines se consomment comme celles des salsifis. Les jeunes pousses se mangent crues ou cuites. Les feuilles développées, débarrassées des épines qui les bordent, fournissent un légume délicat. En Afrique du nord, la nervure des feuilles et le pétiole s'emploient comme les cardes. Avant la floraison, les tiges sont tendres et juteuses. Les capitules, cuits comme des artichauts, sont d'un goût très fin. Le chardon-Marie a connu les honneurs de la culture potagère mais il est depuis longtemps tombé dans l'oubli (**Debuigne. G et Couplan .F, 2006**).

Les éleveurs l'utilisent entière comme fourrage du cheptel ovin, bovin, caprin et camelin durant les périodes de disettes pour assurer leurs alimentations de faite de sa valeur nutritive (**Alaoui ismaili.S, 2016**).

Dans la plupart des essais cliniques, ils ont utilisé un extrait normalisé contenant de 70 % à 80 % de silymarine. Les extraits de chardon-Marie ont fait l'objet de très nombreuses études cliniques, notamment le produit Legalon®, fabriqué par une compagnie allemande (**Figure 8**) (**Benmarce .Y et al, 2016**).



**Figure 8** : Le médicament Legalon® 90mg ([www.drogaraia.com](http://www.drogaraia.com))



**Chapitre II**  
**Stress oxydant**

## II .1.Radicaux libres

### II.1.1.Définition

L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant la matière organique. Mais nos cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques, nommés radicaux libres organiques. (Meziti. A, 2007).

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Ce sont des espèces chimiques très instables qui jouent un rôle dans l'action de certains traitements anti cancéreux. Leur structure comprend un électron célibataire qu'ils recherchent à assembler en attaquant et en endommageant les molécules voisines ( Letkessas.H et Adraa.I, 2017)(figure9).

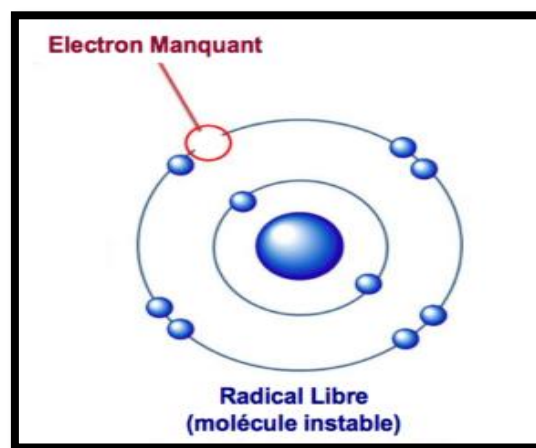


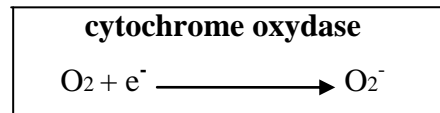
Figure 9 : Le radical libre (www.hebedesandes.com)

### II.1.2. Principaux types des espèces réactives d'oxygène (ERO)

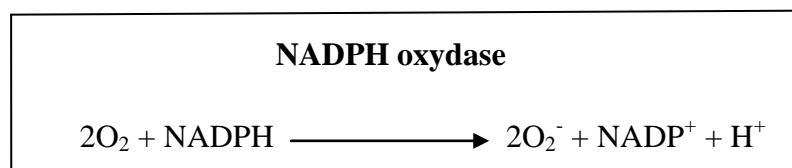
Parmi les espèces radicalaires les plus intéressantes se trouvent les espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui sont des radicaux libres qui dérivent de la molécule d'oxygène, par addition d'un électron. les principales espèces réactives de l'oxygène sont: le radical superoxyde ( $O_2^-$ ), le radical hydroxyle (OH), le monoxyde d'azote (NO) et aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et le peroxydinitrite( $ONOO^-$ ) (Gutteridge, 1993 ;Jacques et André, 2004).

### II.1.2.1. Radical superoxyde

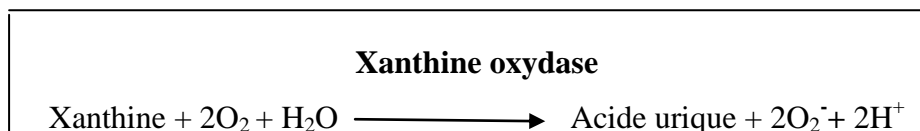
L'origine principale du radical superoxyde est sans conteste la chaîne respiratoire mitochondriale. En effet, ce système permet la production du radical superoxyde par l'addition d'un électron à l'oxygène moléculaire, cette réaction est catalysée par le cytochrome oxydase mitochondrial:



Le radical superoxyde peut également se former lors de la phagocytose grâce à la NADPH oxydase présente dans la membrane plasmique des phagocytes :



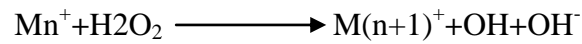
Une autre source possible est la xanthine oxydase. Cette enzyme catalyse l'oxydation de la xanthine en acide urique.



Le radical superoxyde est peu réactif, mais il entre comme agent oxydant dans la majorité des réactions (Marfak, 2003 ; Antwerpen, 2006).

### II.1.2.2. Radical hydroxyle

Le radical hydroxyle ( $\text{OH}\cdot$ ) est une espèce radicalaire hautement réactive. Il est principalement formé lors de réactions d'ions métalliques avec le peroxyde d'hydrogène, ces réactions sont décrites sous le nom de réactions de Fenton:

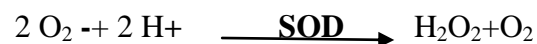


Le fer peut également catalyser la transformation de l'anion superoxyde en présence de peroxyde d'hydrogène avec production de radical hydroxyle selon la réaction dite Haber-Weiss. Cette réaction est relativement lente et moins courante que la précédente dans les tissus vivants (**Jacques et André, 2004**).



### II.1.2.3. Peroxyde d'hydrogène

Il se forme par une réaction de dismutation du radical superoxyde, catalysée par le superoxyde dismutase (SOD).



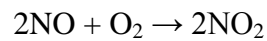
Le peroxyde d'hydrogène est moins réactif que l'anion superoxyde, mais il possède une Capacité de diffusion importante (**Jacques et André, 2004**).

### II.1.2.4. Monoxyde d'azote

Le monoxyde d'azote (ou oxyde nitrique) est un radical libre synthétisé dans les cellules endothéliales à partir de l'arginine et l' $\text{O}_2$  en présence de l'enzyme nitrique oxyde synthétase (NO) (**Bonnefont Rousselot et al, 2003 ; Vincent & Martin, 2008**) .

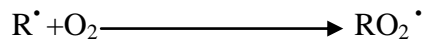


Le monoxyde d'azote est un radical qui peut naturellement réagir avec la plupart des espèces oxygénées et se transformer en dioxyde d'azote ( $\text{NO}_2$ ):



### II.1.2.5. Radicaux alkyles R• et peroxy ROO•

Les radicaux peroxy sont des radicaux secondaires issus de l'addition de l'oxygène sur les radicaux centré sur le carbone R•.



Les radicaux R• sont généralement issus de l'action des radicaux hydroxyles sur les substrats biologiques (par arrachement d'atome d'hydrogène ou addition sur les doubles liaisons) (Delattre et al, 2005).



### II.1.2.6. Oxygène singulet (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>)

Il correspond à une forme excitée de l'oxygène O<sub>2</sub>, il possède la même structure électronique que l'oxygène, mais «agencée» différemment, à savoir que les électrons de la couche externe initialement non appariés se sont appariés. Il n'est donc pas radicalaire. Son état «excité» lui confère un potentiel oxydant supérieur à celui de l'oxygène (Bonfont Rousselot et al, 2003).

## II.1.3. Origines des radicaux libres

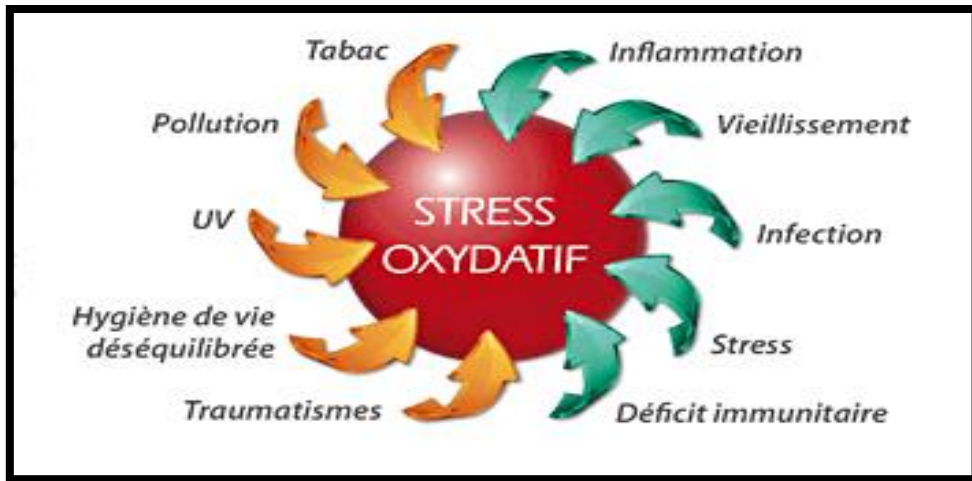
### II.1.3.1. Origines exogènes

L'organisme humain est soumis à l'agression de différents agents extérieurs capables de donner naissance à des espèces oxygénées réactives (Favier. A, 2003).

Les rayonnements UV (par l'intermédiaire d'agents photo sensibilisants) et les radiations ionisantes induisent la synthèse de radicaux libres dérivés de l'oxygène tels que O<sub>2</sub><sup>-•</sup>, OH•, <sup>1</sup>O<sub>2</sub> et de molécules génératrices de radicaux libres.

L'oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO<sub>2</sub>), des toxiques présents dans notre environnement (suie, goudron, tabac, polluants industriels) sont également responsables de la synthèse de radicaux libres. Ils sont à l'origine d'une auto- oxydation des acides gras poly-insaturés (AGPI) des alvéoles pulmonaires (Favier.A, 2003) (figure10).



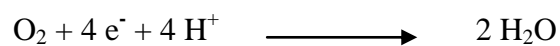


**Figure 10 :** Les sources exogènes des radicaux libres (Letkessas.H et Adraa.I, 2017) .

### II.1.3.2. Origines endogènes

Les facteurs responsables de l'augmentation de la production de radicaux libres par l'organisme sont appelés facteurs oxydants. Ils se divisent en facteurs endogènes et exogènes.

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques, la plupart des radicaux libres se forment au cours de métabolisme de l'oxygène (réduction de l'oxygène moléculaire en eau) dans les mitochondries. Le passage d'une molécule d'oxygène à deux molécules d'eau nécessite l'action de quatre électrons selon l'équation :



Cependant, et jusqu'à 5 % des cas, on peut assister à une réduction incomplète de l'oxygène en eau. Cette réduction incomplète aboutit à la production de l'oxygène singulet ( $^1\text{O}_2$ ) mais surtout de l'anion superoxyde ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ). La dismutation de  $\text{O}_2^{\bullet-}$  va donner naissance au peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) puis indirectement au radical hydroxyl ( $\text{OH}^{\bullet}$ ) (Valko. M et al, 2006 ; Seghaouil.M et Zermane.A,2017) (figure11).

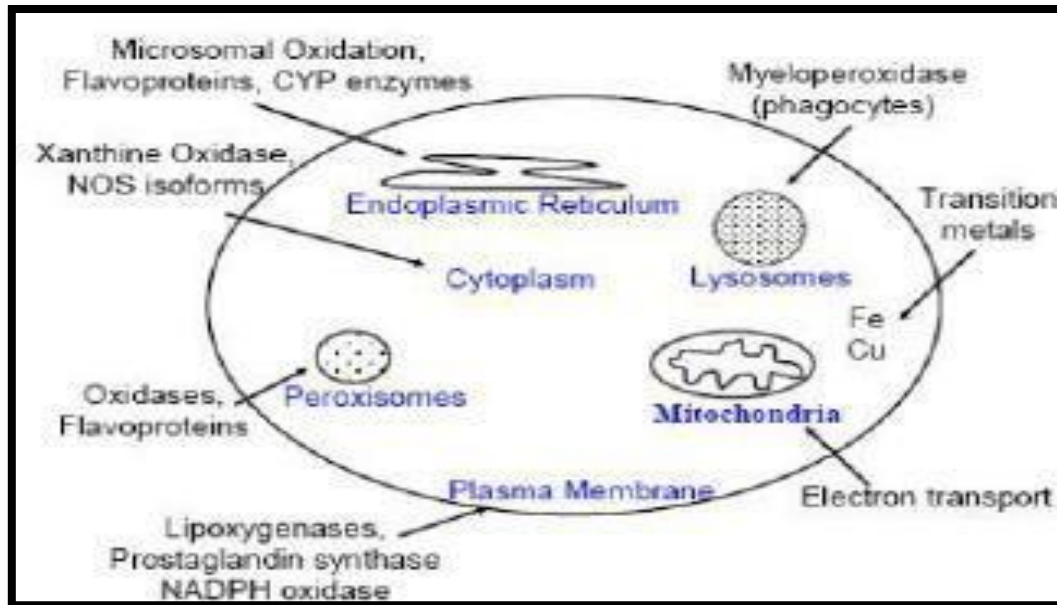


Figure 11 : Sources endogènes des espèces réactives (Letkessas.H et Adraa.I, 2017)

#### II.1.4. Rôle physiologiques des radicaux libres

Le rôle des radicaux libres est très complexe car ils peuvent avoir un rôle physiologique ou un effet toxique en fonction de leur concentration. Dans des conditions normales, ils sont générés en faible quantité (Haleng.J et al, 2007) impliqués dans le maintien de l'homéostasie cellulaire (prolifération cellulaire normale, métabolisme normal, état redox normal pour l'expression de gènes). et jouent un rôle dans la transduction du signal intracellulaire et de messagers secondaires capables, notamment, de réguler le phénomène de l'apoptose ou d'activer des facteurs de transcription (Seghaouil.M et Zermane.A,2017).

## II.2. Antioxydants

### II.2.1.Définition

Un antioxydant est défini comme une substance qui, ajoutée à faible dose à un produit naturellement oxydable à l'air, est capable de ralentir ou d'inhiber le phénomène d'oxydation ( Park. J et Jung .WK, 2001). Cette définition peut être élargie et le terme "antioxydant" englobe ainsi toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères potentiels des processus ou réactions qui engendrent une oxydation excessive (Shimizu.H, 2004).

On distingue deux sources d'antioxydants: l'une exogène est apportée par l'alimentation (vitamines, caroténoïdes ...) et l'autre endogène se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase...).

## II.2.2. Classification des antioxydants

### II.2.2.1. Antioxydants enzymatiques

L'organisme humain possède un système enzymatique, constitué principalement de trois enzymes: la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (GPx) (Avisar.N et al,1989).

Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène, conduisant finalement à la formation d'eau et d'oxygène moléculaire (Marfak.A, 2003).

#### a) Superoxydes dismutases

Les superoxydes dismutases (SOD) constituent la première ligne de protection contre les dérivés radicalaires de l'oxygène (Vergely et al, 2003). Ils sont présents dans presque toutes les cellules aérobies et dans les liquides extracellulaires (Kabel.A et al, 2014).

La superoxyde dismutase (SOD), est une enzyme qui élimine l'anion superoxyde par une réaction de dismutation, elle produit de l'oxygène et du peroxyde d'hydrogène (Jacques et André, 2004).

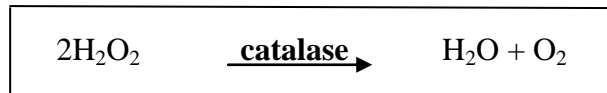


#### b) Catalase

Cette enzyme est localisée essentiellement dans les peroxysomes (Valko et al, 2006).

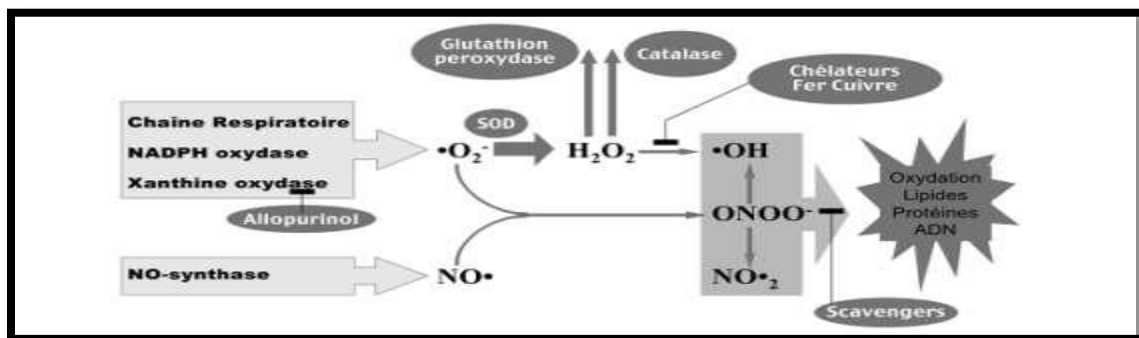
Le peroxyde d'hydrogène produit par la réaction de dismutation peut subir une réaction de Fenton. Il ne faut pas donc qu'il s'accumule, c'est le rôle de la catalase, elle transforme deux

molécules de peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène qui sont des composés stables (Jacques et André, 2004).



### c) Glutathion peroxydase (GPx)

La glutathion peroxydase est une enzyme qui constitue l'un des plus importants systèmes enzymatiques de protection car elle est capable non seulement de détoxifier le peroxyde d'hydrogène, mais aussi d'autres hydroperoxydes résultant de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras (Ganther.HE, 1999)(figure12).



**Figure 12 :** Action des antioxydants au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène (Belmimoun.A, 2016)

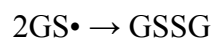
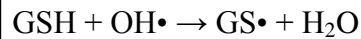
### II.2. 2.2. Systèmes antioxydants non-enzymatiques

De nombreuses molécules issues de notre alimentation : vitamines, nutriments, composés naturels,...etc. sont considérés comme des antioxydants. Notons à titre d'exemples, les plus courants:

## 1- Système antioxydant endogène non enzymatique

### a) Glutathion

Le glutathion est un tripeptide (L- $\gamma$ -glutamyl-L-cysteinyl-glycine). joue un rôle important comme antioxydant endogène et dans le maintien de l'équilibre d'oxydo-réduction. En fait, le GSH participe à l'élimination du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et des LOOH, en servant de cosubstrat à l'enzyme GSH-Px (Seghaouil.M et Zermane.A, 2017). Le GSSG formé par cette première réaction est à nouveau réduit en GSH par la GSH réductase, une enzyme qui utilise le NADPH comme cofacteur. Le GSH peut inhiber la peroxydation des lipides et s'avère efficace comme piègeur direct de certains ERO, tels les radicaux OH• et l'oxygène singulet 1O<sub>2</sub>. (Halliwell. B, 1996). Il est antioxydant par son caractère nucléophile et radicalaire :



### b) Acide urique

Le tissu humain ne possède pas l'enzyme nécessaire à la dégradation de l'acide urique en allantoiné, c'est-à-dire l'urate oxydase: en conséquence, l'acide urique s'accumule comme produit final de catabolisme des purines, et est présent en quantité importante dans le plasma humain avant d'être éliminé par voie rénale. La perte de cette enzyme au cours de l'évolution pourrait avoir des effets bénéfiques puis qu'il a été démontré que l'acide urique possédait des propriétés antioxydantes (Lacolley et al, 2007). A un pH physiologique l'acide urique est majoritairement ionisé sous forme d'urate, un piègeur puissant de radicaux (OH•, ROO•, NOO•...) (Haleng et al, 2007).

### c) Bilirubine

La bilirubine est un produit terminal de la dégradation de l'hème et résulte essentiellement du catabolisme de l'hémoglobine par les cellules réticuloendothéliales. Ce composé liposoluble est capable de piéger les radicaux peroxy, l'oxygène singulet et le radical hydroxyle, protégeant ainsi l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires (Algeciras-Schimmich et al, 2007). La bilirubine est oxydée par certaines espèces recyclée par la biliverdine réductase (Halliwell et Gutteridge, 2007).

**d) Acide lipoïque**

C'est un antioxydant puissant qui peut régénérer d'autres antioxydants tels que les vitamines C et E (David, 2015). Il est capable de piéger le HO•, ROO•, HOCl• et  $1O_2$  (Packer et al, 2001), de chélate les métaux lourds, réduit la glycation et interviendrait dans la réparation de l'ADN. Il existe sous forme oxydée et sous forme réduite. Produit en petite quantité par le foie, il se trouve également dans certains aliments (la levure, la viande de boeuf, l'épinard, le brocoli...) (Médart.J,2009).

**e) Coenzyme Q10**

La coenzyme Q10 appelée ubiquinone en raison de son ubiquité dans les cellules, est un dérivé benzoquinolique avec une longue chaîne latérale isoprénique (Haleng et al, 2007). Elle est hautement soluble dans les lipides, et se retrouve dans la quasi-totalité de la membrane cellulaire, ainsi que les lipoprotéines (Stargrove et al, 2008). La CoQ10 synthétisée par l'organisme à partir du mévalonate qui est également impliqué dans la formation du cholestérol (Roberfroid et al, 2008).

**2- Système antioxydant exogènes non enzymatique****a) Vitamine C ou aide ascorbique**

L'acide ascorbique est une molécule hydrosoluble présente dans la plupart des fruits et légumes (non synthétisée par l'Homme). Elle est connue pour son action protectrice contre l'oxydation membranaire (Retsky et al, 1999).

L'ascorbate est un très bon capteur de radicaux libres oxygénés puisqu'il réagit non seulement avec les radicaux hydroxyles OH•, mais aussi avec les radicaux superoxydes  $O_2^-$  (Gardès-Albert et al, 2003).

**b) Vitamine E**

Elle est considérée comme le principal antioxydant attaché à la membrane utilisé par la cellule pour inhiber la peroxydation lipidique (Valko et al, 2006 ; Bentafar.S et Chaib.M, 2016).

La vitamine E ou  $\alpha$ -tocophérol, est un antioxydant liposoluble, elle capte les radicaux peroxydes lipidique  $RO_2$ . La partie active de la molécule étant la fonction phénol réductrice. Celle-ci perd facilement un atome d'hydrogène et se transforme en radical  $\alpha$ -tocophéryle, ce radical capte les radicaux superoxydes, les radicaux hydroxyles et l'oxygène singulet (Letkessas.H et Adraa.I,2017) (figure13).

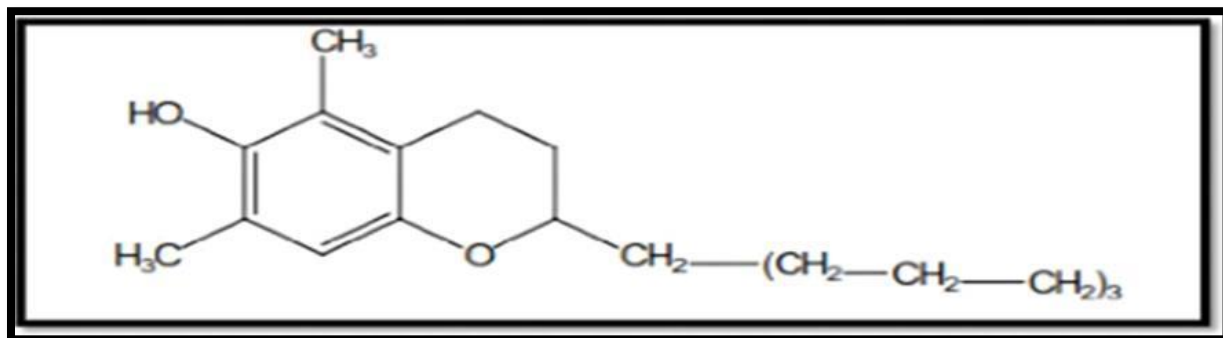


Figure 13 : Structure de la vitamine E (Letkessas.H et Adraa.I,2017)

### c) Polyphénols

Ils constituent une famille importante d'antioxydants présents dans les végétaux (Haleng. J, 2007).

Les composés phénoliques sont capables d'agir et contrôler les radicaux libres en donnant un électron ou un atome d'hydrogène.

Les groupes hydroxyles des polyphénols sont des donneurs d'atomes d'hydrogène ; ils peuvent réagir avec les espèces réactives de l'oxygène et les espèces réactives de l'azote (Letkessas.H et Adraa.I,2017)(figure14).

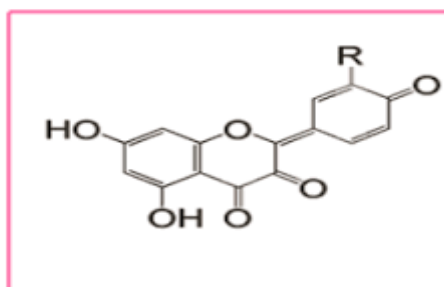


Figure 14 : Structure des polyphénols (www.omicsonline.org)

#### d) Caroténoïdes

Les plus importants sont le bêta-carotène, l'alpha-carotène, la lutéine, la zéaxanthine et le lycopène. Ce sont eux qui donnent aux fruits et légumes des couleurs orange, rouge et jaune. Ce sont d'excellents piègeurs d'espèces radicalaires particulièrement vis-à-vis de la lipoperoxydation des phospholipides membranaires grâce à leurs structures (**Belmimoun.A , 2016**).

#### e) Oligoéléments

Les oligo-éléments notamment (Le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le sélénium (Se) et le fer (Fe)) sont des cofacteurs enzymatiques impliqués dans toutes les grandes voies métaboliques, notamment dans la protection contre les espèces radicalaires.

Toutes les enzymes antioxydants requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi, la SOD mitochondriale a besoin de manganèse, la SOD cytosolique de cuivre et de zinc, la catalase de fer et la GPx de sélénium.

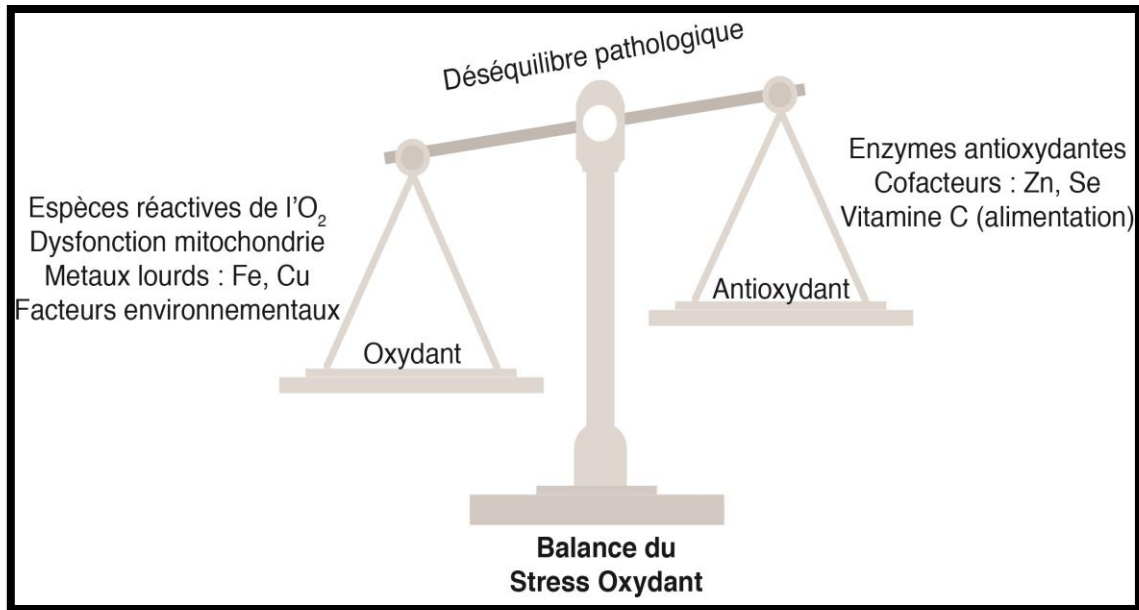
Cependant, certains oligoéléments, notamment le fer, lorsqu'ils sont en excès dans l'organisme et sous leur forme réduite, peuvent avoir une action pro-oxydante (réaction de Fenton, d'Haber-Weiss) (**Seghaouil.M et Zermane.A, 2017**).

### II.3. Stress oxydant

#### II.3.1.Définition

La définition du stress oxydant se réfère à une rupture de l'équilibre homéostatique normalement maintenu entre la production des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote et la défense antioxydante de l'organisme. Il s'agit donc d'une perturbation dans l'équilibre pro-oxydant/antioxydant en faveur de la formation des espèces réactives, conduisant à des dommages potentiels sur les cellules, les tissus, l'ADN, etc...(Anderson.T,1997)(figure15).





**Figure 15** : Mécanismes provoquant un stress oxydant au sein d'une cellule ([www. planetvie.ens.fr](http://www.planetvie.ens.fr))

### II .3.2. Origine du stress

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense. Dans les circonstances normales, on dit que la balance antioxydants /pro oxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé «stress oxydant » (Favier.A, 2003).

### II .3.3.Conséquences du stress oxydant

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (Favier. A, 2003).

Les principales cibles radicalaires sont :

### II .3.3.1. Oxydation des glucides

Le glucose peut s'oxyder dans conditions physiologique en présence de traces métalliques en libérant des cèto-aldéhydes,  $H_2O_2$  et  $OH^\bullet$ . Son oxydation entraine la coupure de protéines et leur glycation par attachement du cèto-aldéhyde (**Seghaouil.M et Zermane.A, 2017**).

### II .3.3.2. Oxydation des protéines

L'action des radicaux libres a lieu sur les chaînes latérales de certains acides aminés comme le thiol des cystéines. A proximité des sites de liaison d'ions métalliques peuvent se dérouler des réactions d'oxydation qui produisent des acides aminés anormaux. Les radicaux libres sont également responsables de la formation de ponts disulfures qui modifient la conformation des protéines et nuisent à leur activité biologique (activité enzymatique, transduction d'un signal ou système de transport) (**Jacques et André, 2004**).

### II .3.3.3. Oxydation de l'ADN

Les dommages oxydatifs à l'ADN peut être le plus dangereux pour la cellule car il affecte le cycle cellulaire et conduit à des mutations et le cancer. L'oxydation de la guanine par le radical hydroxyle( $OH^\bullet$ ) à 8-hydroxy-2-désoxyguanosine (8-OHdG), qui a finalement conduit à GC → TA transversions lors de la réplication de l'ADN suite. Altération de l'ADN a été suggérée d'être responsable en partie dans les processus de vieillissement, le diabète sucré, les maladies inflammatoires et les maladies du foie (**Seghaouil.M et Zermane.A, 2017**).

### II .3.3.4. Oxydation des lipides

Les lipides et précisément leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par les EOR, réaction appelée peroxydation lipidique. Ses conséquences seront différentes:

- ✓ L'attaque des lipides circulants aboutit à la formation des LDL oxydées, qui captées par des macrophages forment le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires (**Seghaouil.M et Zermane.A, 2017**).
- ✓ L'attaque des phospholipides membranaires entraine la perte d'acides gras polyinsaturés, modifie la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux (**Favier. A, 2003**).



# **Chapitre III**

## **Régulation de la glycémie et le diabète sucré**

### III.1. Régulation de la glycémie

Tout organisme requiert en permanence de l'énergie pour maintenir ses fonctions vitales.

Parmi les principales sources d'énergie de l'organisme (glucides, lipides et protéines), le glucose est la molécule énergétique la plus utilisée dans des conditions physiologiques, du fait de sa disponibilité immédiate et qu'il soit le seul substrat énergétique du cerveau.

Les concentrations circulantes du glucose (glycémie) doivent être maintenues dans des limites strictes afin de ne pas mettre l'intégrité de l'organisme en péril (**Mahfouz .R, 2015**).

Deux systèmes hormonaux interviennent sur le métabolisme des glucides (**Valensi. P et al, 2005**):

#### III.1.1.Système hypoglycémiant

L'insuline est une hormone protéique (51 acides aminés) sécrétée par les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans du pancréas (**Attouche. A, 2017**).

Après un repas, les concentrations de glucose circulant sont élevées et l'insuline est la seule hormone capable de diminuer la glycémie (**Mahfouz .R, 2015**).

-Dans le muscle et le foie : elle va permettre le stockage du glucose sous forme de glycogène. On a donc une augmentation de la glycogénogenèse (muscle, foie) et une diminution de la glycogénolyse (transformation du glycogène en glucose) et de la néoglucogenèse (formation de glucose à partir des acides aminés et des acides gras).

-Dans le tissu adipeux : elle va permettre le stockage du glucose sous forme de triglycérides (**www.aem2.org**).

#### III.1.2. Système hyperglycémiant

##### Glucagon

Le glucagon est une hormone hyperglycémiant, sécrétée par les cellules alpha des îlots de Langerhans du pancréas (**Attouche. A, 2017**). Elle constitue le principal stimulus pour la production hépatique du glucose et agit par activation de la glycogénolyse tandis que la néoglucogenèse est modestement augmentée (**Figure 16**)(**www.institut-numerique.org**).

Les autres hormones hyperglycémiantes sont :

- **l'adrénaline** synthétisée par les cellules médullosurrénales
- **Le cortisol** synthétisé par les cellules corticosurrénales (fasciculée)
- **L'hormone de croissance (GH)** synthétisée par les cellules somatotropes antéhypophysaires (**www.aem2.org**).

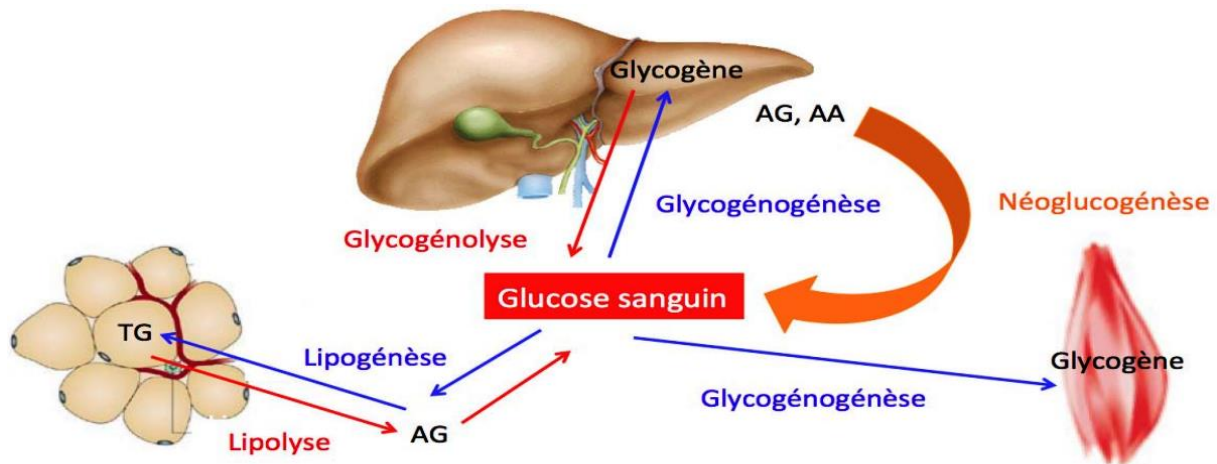


Figure16: Les organes effecteurs de la régulation de la glycémie (www.aem2.org)

Normalement la glycémie à jeun est comprise entre 0,80 g/l (3,85mmol/l) et 1,10 g/l (6mmol/l). Après les repas, la glycémie (glycémie post-prandiale) ne dépasse pas 1,40 g/l (7mmol/l) (Valensi. P et al, 2005).

Si l'un des deux systèmes de régulation de l'homéostasie glycémique, voire même les deux à la fois sont altérés, l'organisme ne parvient plus à contrôler la glycémie. On parle alors d'hypoglycémie lorsqu'elle est inférieure à 0,8g/l et d'hyperglycémie lorsqu'elle dépasse 1.26g/l, entraînant, dans les deux cas de troubles métaboliques et physiologiques très graves (Mokrani .EH, 2012).

## III. 2. Diabète sucré

### III.2.1. Définition

Le diabète sucré (du grec *diabetes* = qui traverse le rein ; et du latin *mellitus* = de saveur mielleuse) (Horn.F et al, 2005) est un groupe de maladies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie chronique résultant d'un défaut de la sécrétion de l'insuline ou de l'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées. L'hyperglycémie chronique est associée à terme avec des complications organiques spécifiques touchant particulièrement les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux (Drouin.P et al, 1999).

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), les critères actuels de diagnostic biologique indiquent, qu'un patient est diabétique : dès lors qu'il présente deux glycémies à jeun supérieures à 1,26 g/l (7 mmol/l) ; ou qu'une glycémie sur plasma veineux deux heures après ingestion de 75g de glucose (test d'hyperglycémie provoquée par voie orale : HGPO) est

supérieur ou égale à 2,00 g/l ; ou encore lorsqu'il présente de symptômes de diabète (polyurie, soif, polyphagie, amaigrissement...), associée à une glycémie aléatoire (sur plasma veineux) supérieure ou égale à 2,00 g/l (11,1 mmol/l). Selon l'association américaine du diabète (ADA), le diabète pourrait se définir par une mesure de l'hémoglobine glyquée (HbA1c) supérieure ou égale à 6,5 % (**Rahhou. EH, 2016**).

### III.2.2. Classification du diabète

**III.2.2.1. Diabète de type 1 (DT1)** ou diabète insulino-dépendant = Diabète juvénile = diabète maigre (**Benmansour.k, 2014**)

Représente 10% environ de tous les cas de diabète (**Nouri. A, 2014**), ce type apparaît le plus souvent pendant l'enfance, à l'adolescence ou au début de l'âge adulte, rarement chez les personnes plus âgées (**Laib. R et al, 2017**).

Selon la classification de l'association américaine du diabète (ADA), il existe deux formes: une forme auto-immune, la plus fréquente et une forme idiopathique, plus rare (caractérisé par l'absence d'auto-anticorps) (**www.sfendocrino.org**).

Le diabète insulino-dépendant est caractérisé par une carence absolue en insuline liée à une destruction des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans (**Figure 17**) (**Tapsoba .MTF, 2001 ; Horn.F et al, 2005**).

L'hyperglycémie apparaît lorsqu'il ne reste plus que 10 à 20% de cellules  $\beta$  fonctionnelles. (**Langlois.A, 2008 ; Nouri . A, 2014**). Cette inflammation appelée « insulite » correspond à la réaction auto-immune dirigée contre certains antigènes exprimés entre autres par les cellules  $\beta$  des îlots (**Buysschaert. M, 2009**) et se déroule sur de nombreuses années (5 à 10 ans voire plus, avant l'apparition du diabète) (**Langlois.A, 2008 ; Nouri.A, 2014**).

La destruction des cellules bêta peut être rapide (enfants et adolescents) ou plus lente (adultes) (**Drouin.P et al., 1999**).

Cette maladie métabolique entraîne une acidocétose mortelle en l'absence de traitement (**Bitil. A, 2015**).



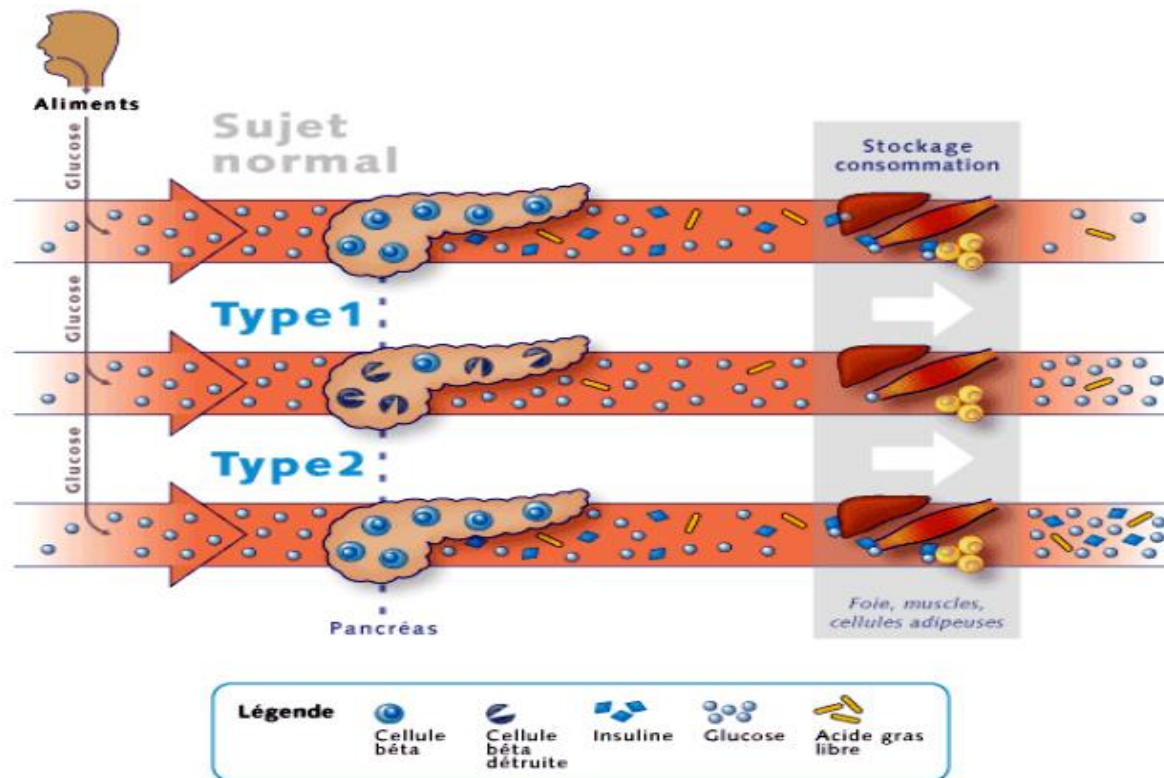


Figure 17 : Différence entre diabète type 1 et type 2 (Rodier.M ,2001)

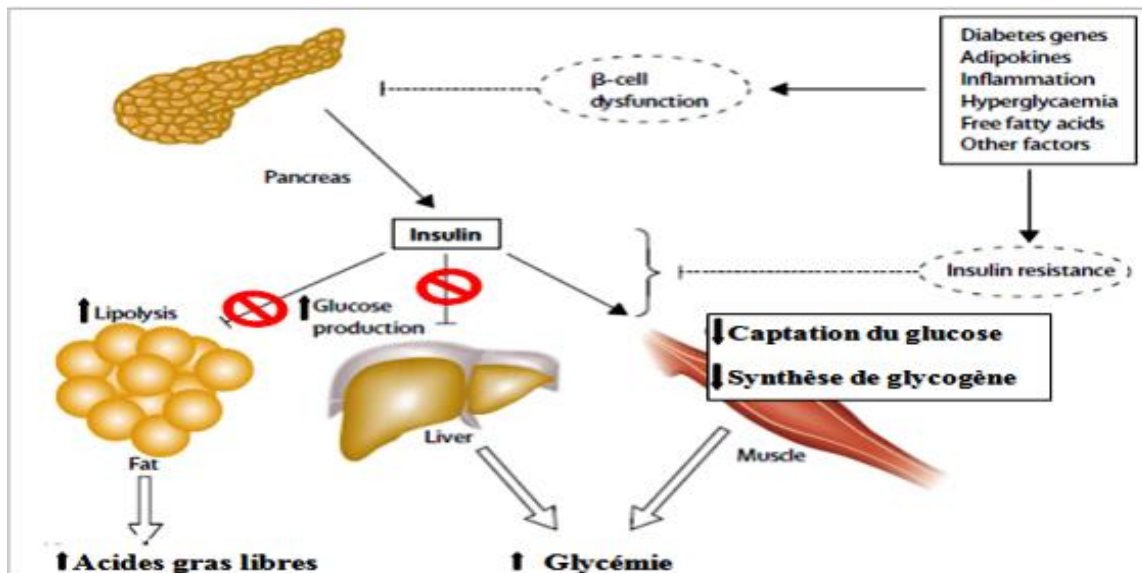
**III.2.2.2. Diabète de type 2 (DT2) ou diabète non insulino-dépendant = diabète de la Maturité = diabète gras (Benmansour.k, 2014).**

C'est la forme de diabète la plus répandue représentant près de 90% des cas diagnostiqués (Nouri. A, 2014) et touche essentiellement des personnes de plus de 40 ans (Djedioui .A, 2010).

Le diabète non insulino-dépendant est caractérisé par la combinaison d'une résistance à l'insuline et d'un déficit (relatif) de la sécrétion d'insuline (Figure 17) (Tapsoba .MTF, 2001). Au début de la maladie, la résistance à l'insuline commence à se produire alors que la sécrétion d'insuline augmente pour compenser la résistance. Dans ce stade précoce, les patients diabétiques ont habituellement une glycémie normale mais sont hyper-insulinémiques. Plus tard, la sécrétion d'insuline ne permet pas de compenser la résistance à l'insuline et le taux de glycémie commence à augmenter jusqu'à une concentration anormalement élevée. Si l'hyperglycémie n'est pas bien contrôlée à long terme, éventuellement, la masse de cellules  $\beta$  pancréatiques diminuera en raison d'un dysfonctionnement (Guerroudj .O et Hattab. N, 2017).

La résistance s'exerce au niveau des trois principaux tissus cibles de l'hormone : le foie, le muscle squelettique et le tissu adipeux (Figure 18). En pratique, elle se manifeste par une

augmentation de la production hépatique de glucose principalement à partir de la néoglucogenèse, une diminution des capacités de captation musculaire de glucose et une lipolyse exagérée avec élévation du taux d'acides gras libres plasmatiques (**Rahhou. EH, 2016**).



**Figure 18** : Principales perturbations métaboliques dus à l'insulinorésistance  
(**Rahhou. EH, 2016**)

### III.2.2.3. Diabète gestationnel

Qui correspond à un trouble de la tolérance glucidique apparaissant entre la 24<sup>ème</sup> et la 28<sup>ème</sup> semaine de grossesse et disparaît après l'accouchement (**Agroum.Set Koucha. S, 2016**). Durant la grossesse, le placenta produit des hormones qui contrecarrent l'action de l'insuline. (**Gallant. M, 2006**).

Le diabète gestationnel représente un très important facteur de risque d'apparition de diabètes type 2 plus tard au cours de la vie (**Benmansour.k, 2014**).

Les nouveaux-nés présentent un poids supérieur à 4 kg (macrosomie) qui les expose à des risques de développer à l'avenir des troubles métaboliques (**Bitil. A, 2015**).

### III.2.2.4. Autres types de diabète

Ils regroupent les autres types de diabètes dont les étiologies sont bien connues à l'instar du diabète des endocrinopathies (phéochromocytome, syndromes de Cushing, acromégalie) (**Cherifi. MEH, 2013**). diabète pancréatique (pancréatite chronique ou aiguë, cancer du pancréas), diabètes iatrogènes (provoquées par certains médicaments tels que, les glucocorticoïdes, les contraceptifs oraux, ou encore, les interférons  $\alpha$ ) (**Laib. R et al, 2017**).



Il existe aussi les diabètes monogéniques résultent de l'anomalie d'un gène intervenant dans la régulation moléculaire de l'insulinosécrétion (les diabètes de type MODY, le diabète mitochondrial)(Leroy. C, 2012).

- Le diabète de type MODY est défini par la survenue précoce, classiquement avant l'âge de 25 ans, d'un diabète non cétosique, familial, présentant une transmission autosomique dominante (Bouchama. I, 2014).

Différents gènes ont été identifiés comme responsables de diabète MODY, entraînant un défaut fonctionnel de la cellule  $\beta$  (Tableau 3) (Leroy. C, 2012).

**Tableau 3 :** Gènes impliqués dans les différents diabètes de type MODY (Leroy. C, 2012)

MODY	GÈNE	LOCUS
MODY 1	<i>HNF4a</i>	20q12
MODY 2	<i>GCK</i>	7p13
MODY 3	<i>HNF1A</i>	12q24.2
MODY 4	<i>IPF1</i>	13q12.2
MODY 5	<i>HNF1B</i>	17q21
MODY 6	<i>NEURO D1</i>	2q31.3
MODY 7	<i>KLF11</i>	2p25.1
MODY 8	<i>CEL</i>	9q34.3
MODY 9	<i>PAX4</i>	7q32.1
MODY 10	<i>INS</i>	11p15.5
MODY 11	<i>BLK</i>	8p23.1

- Le diabète mitochondrial est causé par une mutation typique de transmission maternelle, touchant l'ADN mitochondrial (Rebai .R, 2017) (le génome mitochondrial est hérité exclusivement de la mère car les mitochondries apportées par le spermatozoïde sont rapidement dégradées dans l'ovocyte fécondé) (Poullot .AG, 2016).

### III.2.3. Facteurs déclenchant du diabète

#### III.2.3.1. Diabète de type1

##### ✓ Facteurs génétiques

L'existence d'un terrain génétique de susceptibilité au diabète de type 1 est démontrée. Le déterminisme de la maladie est polygénique. Des études du génome ont permis de localiser des régions génétiques impliquées dans la susceptibilité au diabète de type 1. Plus de 20 régions différentes du génome humain représentent une certaine liaison avec le diabète de type1 telles que la région codant pour le HLA sur le chromosome 6p21 et la région codant

pour le gène de l'insuline sur le chromosome 11p 15 (gène appelé maintenant DSID2, ou en anglais IDDM2).

Les types de HLA associés au diabète varient selon les populations étudiées (**Laib. R et al, 2017**).

Le risque pour une mère diabétique insulino-dépendante d'avoir un enfant diabétique est environ 2% alors que le risque est de 4 à 5% lorsque c'est le père qui est diabétique insulino-dépendant (**Bouhouche. I , 2014 ; Lakache. M et al, 2017**).

#### ✓ Facteurs environnementaux

##### a) Infections

Le rôle potentiel d'une infection virale dans la pathogénie du diabète de type 1 fut suspecté initialement à partir d'études épidémiologiques (augmentation de l'incidence du diabète en automne et en hiver, association significative entre diabète et rubéole congénitale, oreillons, coxsackie B4, cytomégalovirus, virus Epstein-Barr) et par l'existence de modèles de diabètes viro-induits chez l'animal.

Les mécanismes potentiels sont multiples : réaction antigénique croisée (homologie entre protéines virales et autoantigènes), activation lymphocytaire T, modification de l'expression antigénique des cellules  $\beta$ , rôle cytopathogène direct (peu probable) (**Bouhouche.I, 2014**).

##### b) Régime alimentaire

Dans les pays scandinaves, il a été noté une prévalence plus élevée de diabète de type 1 chez les nourrissons nourris au lait de vache que chez ceux qui étaient allaités par leur mère. La démonstration de la présence au diagnostic d'anticorps anti-albumine bovine a fait suspecter un rôle toxique de certaines protéines du lait de vache. En fait, une partie de la molécule d'albumine bovine présenterait des analogies de structure avec certaines protéines des cellules B et pourrait ainsi s'avérer immunogène (**Rodier.M, 2001**).

Divers aliments comme le café ont été proposés comme facteurs potentiellement diabétogènes (**Redouane .SA, 2011**). Il en est de même pour diverses protéines alimentaires (comme le gluten) peuvent aussi jouer un rôle dans l'expression du diabète type 1 (**Knip. M et al, 2010**).

**c) Toxiques**

L'alloxane, la streptozocine, la pentamidine et le pyrinuron (raticide) affectent directement la cellule bêta ; la susceptibilité à chaque agent est variable selon les espèces (**Bouhouche.I, 2014**).

**d) Stress**

Le stress peut avancer le développement du diabète de type 1 en stimulant la sécrétion d'hormones hyperglycémiantes, et possiblement en modulant l'activité immunologiques (**Friedman .S et al, 1996;Violettes. B et al, 2006**).

**✓ Facteurs immunologiques**

Le diabète de type 1 est une maladie auto-immune lente médiée par les lymphocytes T. Des études familiales ont prouvé que la destruction des cellules  $\beta$  par le système immunitaire (des auto-anticorps dirigés contre le pancréas ainsi qu'un certain nombre d'autres anticorps non spécifiques des cellules  $\beta$ ) se fait sur nombreuses années (**Langlois. A, 2008**).

Le diabète de type 1 peut être associé à d'autres affections auto-immunes dont des maladies thyroïdiennes, la maladie coeliaque, et certaines formes d'anémies (**Carneiro.M et Dumont. C, 2009**).

La détection de ces anticorps permet d'affirmer le caractère auto-immun d'un diabète, c'est également à la base du dépistage du diabète de type 1, on trouve (**Rahhou. EH, 2016**):

→ Les anticorps anti-cellules d'îlots (islets-cellsantibody : ICA);

→ Les anticorps anti-décarboxylase de l'acide glutamique (anticorps anti-GAD);

→ Les anticorps anti-tyrosine phosphatase (anticorps anti-IA2);

→ Les anticorps anti-insuline (IAA);

→ Les anticorps anti-protéine transporteuse de zinc (ZnT8)(**Guiraud .E, 2013 ; Rahhou. EH, 2016**).

**III.2.3.2. Diabète de type 2****✓ Facteurs génétiques**

Les facteurs génétiques sont plus importants dans l'étiologie du diabète de type 2 que dans celles du diabète de type 1. La majorité des cas de diabète de type 2 sont multifactoriels ; avec interaction de facteurs environnementaux et facteurs génétiques. La contribution génétique est

largement inconnue. Mais il est évident que plusieurs gènes sont impliqués (**Redouane .SA,2011 ; Boultif .Z et Bioud. F, 2014**).

On estime que le risque de développer la maladie est de 30% avec un parent atteint de diabète de type 2 et de 70% si les deux parents le sont. Le taux de concordance entre jumeaux monozygotes est de près de 90% (**Guerin-Dubourg .A, 2014**).

#### ✓ **Facteurs environnementaux**

Le facteur le plus puissant prédisposant au diabète de type 2 est l'obésité, particulièrement à répartition abdominale, puisque 80% des personnes atteintes de ce type de diabète présentent un excès pondéral. L'obésité est capable d'induire ou d'aggraver une insulino-résistance, imposant au pancréas une hypersécrétion permanente d'insuline. Pour la majorité des personnes obèses le pancréas sera capable de s'adapter et de maintenir une glycémie dans les valeurs normales mais pour un tiers d'entre eux les capacités de compensation s'épuiseront et ils développeront un diabète de type 2 (**Guerin-Dubourg .A, 2014**).

Le stress, la sédentarité, l'excès alimentaire sous forme de sucre pur ou de graisse animale sont autant de facteurs qui favorisent la survenue de l'obésité et donc du diabète (**Tapsoba .MTF, 2001**).

### **III.2.4.Traitement du diabète**

#### **III.2.4.1. Diabète de type1**

Pour le traitement du DT1, l'insuline reste le moyen le plus efficace, et le plus disponible à fin d'obtenir une glycémie normale bien régulée (**Zerriouh.M, 2015**).

Actuellement toutes les insulines sont d'origine biogénétique, On retrouve deux catégories :

- **Les insulines humaines**

La structure moléculaire de l'insuline humaine est identique à l'insuline produite par le pancréas humain (**www.diabete.qc.ca**).

- **Les analogues de l'insuline humaine**

Les analogues sont fabriqués de la même façon que les insulines humaines c'est-à-dire par génie génétique à partir de souches d'*Escherichia Coli* ou de *Saccharomyces cerevisiae* et sont modifiés au niveau de la séquence en acides aminés (**Bitil. A, 2015**).

### III.2.4.2. Diabète de type2

Le DT2, peut être contrôlé dans les stades précoces de la maladie par un régime alimentaire et une activité physique, mais si la glycémie normale n'est pas atteinte, une prescription d'antidiabétiques oraux (ADO) s'avère obligatoire, un recours à l'insuline peut aussi être nécessaire (Zerriouh.M, 2015).

Le mode d'action des principaux hypoglycémiant oraux chez les patients sont mentionnés dans le **tableau4**.

**Tableau 4:** Mode d'action des principaux hypoglycémiant oraux ([www.diabete.qc.ca](http://www.diabete.qc.ca)« Guide 2017 »).

Classes	Mode d'action
Les sulfamides hypoglycémiant (sulfonylurées)	Stimulent la production d'insuline par le pancréas
Méglitinides	Stimulent la production d'insuline par le pancréas
Biguanides	Diminuent la production de glucose par le foie
Glitazones (Thiazolidinediones)	Améliorent la sensibilité des cellules de l'organisme à l'insuline et diminuent la production de glucose par le foie
Inhibiteurs des alpha-glucosidases	Retardent l'absorption de certains glucides (sucres)
Inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase-4 (DPP-4)	Augmentent l'effet de certaines hormones intestinales (incrétines) impliquées dans le contrôle de la glycémie
Analogues du glucagon-like peptide-1 (GLP-1)	Miment l'effet de certaines hormones intestinales (incrétines) impliquées dans le contrôle de la glycémie
Inhibiteurs du cotransporteur sodium-glucose de type 2 (SGLT2)	Favorisent l'élimination du glucose dans l'urine

Il existe également des comprimés qui renferment deux classes de médicaments antidiabétiques :

- Thiazolidinedione + biguanide (Avandamet®)
- Inhibiteur de la DPP-4 + biguanide (Janumet®, Janumet®XR, Jentaducto<sup>Mc</sup>, Kazano<sup>Mc</sup>, Komboglyze<sup>Mc</sup>)
- Inhibiteur du SGLT2 + biguanide (Xigduo®, Invokamet®, Synjardy®)
- Inhibiteur de la DPP-4 + inhibiteur du SGLT2 (Glyxambi<sup>Mc</sup>) ([www.diabete.qc.ca](http://www.diabete.qc.ca) « Guide 2017 »).

#### III.2.4.3. Diabète gestationnel

Le traitement est constitué par un régime hypoglycémique pour maintenir la glycémie au niveau recommandé additionné par des injections d'insuline si l'objectif glycémique n'est pas atteint (**Bitil. A, 2015**).

#### III.2.5. Phytothérapie et diabète

De nombreuses plantes sont considérées traditionnellement comme antidiabétiques certains sont à l'origine de la mise au point de médicaments exemple : le biguanide "metformine" grâce au *Galega officinalis* (**Djedioui .A, 2010**).

Les plantes possèdent plusieurs principes actifs qui leur permettent d'avoir une action sur l'organisme. Dans le cas du diabète, elles ont une action hypoglycémique, dont le mécanisme diffère ainsi que le principe actif responsable. Parmi les constituants des plantes ayant une activité hypoglycémique, on trouve les polysaccharides, les peptides, les alcaloïdes, les glycopeptides, les triterpénoides, les acides aminés, les stéroïdes, les flavonoïdes, les phénols, les coumarines, les ions inorganiques et les guanidine (**Bouxiid .H, 2012**).

Des exemples de plantes pour lesquels le mode d'action a été mis en évidence sont indiqués dans le **tableau 5**.

Tableau 5: Quelques plantes hypoglycémiantes et leurs mécanismes d'action

Nom scientifique	Nom vernaculaire	Mécanisme d'action
<i>Silybummarianum</i> (L.)Gaertn	-Chardon-Marie -Chouk el djemel	La silymarine ou l'isosilybine A diminuent la résistance à l'insuline, en partie par action agoniste du récepteur PPAR (régulateur clef du métabolisme du glucose et des lipides) (CHARRIÉ. JC et al, 2017).
<i>Oleauropea L</i>	-Olive - Zitoun	Inhibition de l'activité de $\alpha$ -glucosidase et $\alpha$ -amylase, inhibition de l'absorption du glucose (Wainstein. Jet al, 2012).
<i>Artemisia herba-alba</i> Asso	-Armoise blanche - Chih	Réduction de l'insulinorésistance (Hamza.Net al, 2010), augmentation de l'utilisation périphérique du glucose (Al-Shamaony .L et al, 1994).
<i>Trigonella Foenum-greacum L</i>	-Fenugrec - Helba	Action sur la sécrétion d'insuline, inhibition de l'activité de l' $\alpha$ -glucosidase (Vats.V et al, 2002), action possible sur la régénération des cellules $\beta$ (Abdel-Barry.JA et al, 1997).
<i>Cinnamomum cassia</i>	-Cannelle - L-Qrfa	Inhibition de l'activité de $\alpha$ -amylase et $\alpha$ -glucosidase (Adisakwattana.Set al, 2011).
<i>Allium sativum L</i>	-Ail - Touma	Stimulation de l'insulinosécrétion, action possible sur l'augmentation de l'utilisation du glucose et l'inhibition de son absorption intestinale (Eidi. A et al, 2006).
<i>Allium cepa L</i>	-Oignon - Besla	Augmentation de la sécrétion d'insuline, inhibition de l' $\alpha$ -glucosidase, augmentation de l'adiponectine (Akash.Met al, 2014).
<i>Ficus carica L</i>	-Figue -Karmoss	Augmentation de l'absorption périphérique du glucose, augmentation de la glycogénèse, action possible à travers la stimulation de la synthèse de l'insuline (Rashidi.A et Nouredini. M, 2011).
<i>Phoenix dactylifera L</i>	-Dattier -Nakhla	Inhibition de l'activité de $\alpha$ -glucosidase et $\alpha$ -amylase (Khan.SA et al, 2016).
<i>Marrubiumvulgare</i>	-Marrube blanc - Maroubia	Action sur la sécrétion de l'insuline et/ou inhibition de sa dégradation (Boudjelal.Aet al, 2012).





***Partie II :***

***Etude expérimentale***



**Chapitre I**  
**Matériel et**  
**Méthodes**

Notre travail a été réalisé au sein du laboratoire de Biochimie, l'animalerie de la Faculté des sciences de la nature et de la vie et au laboratoire de recherche (Valorisation des Ressources Naturelles, Molécules Bioactives et Analyse Physicochimiques et Biologiques), Faculté des Sciences Exacte, Université des Frères Mentouri, Constantine, Algérie.

## I.1. Matériel

### I.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des parties aériennes de l'espèce *Silybum marianum* (graines et feuilles).

Les graines du chardon marie ont été achetées en Février 2018 de la commune d'El Khroub et selon l'herboriste, la récolte a été réalisée au mois de juin dans la wilaya de Mila (la région de Tessala).

Pour les feuilles de la plante, la récolte a été effectuée avant la floraison en 3 Février 2018 avec une quantité de 140 g dans la commune de Grarem Gouga (Garsalim)(Figure 19).



Figure 19 : Lieu de la récolte de *Silybum marianum* ([www.google.dz/maps](http://www.google.dz/maps))

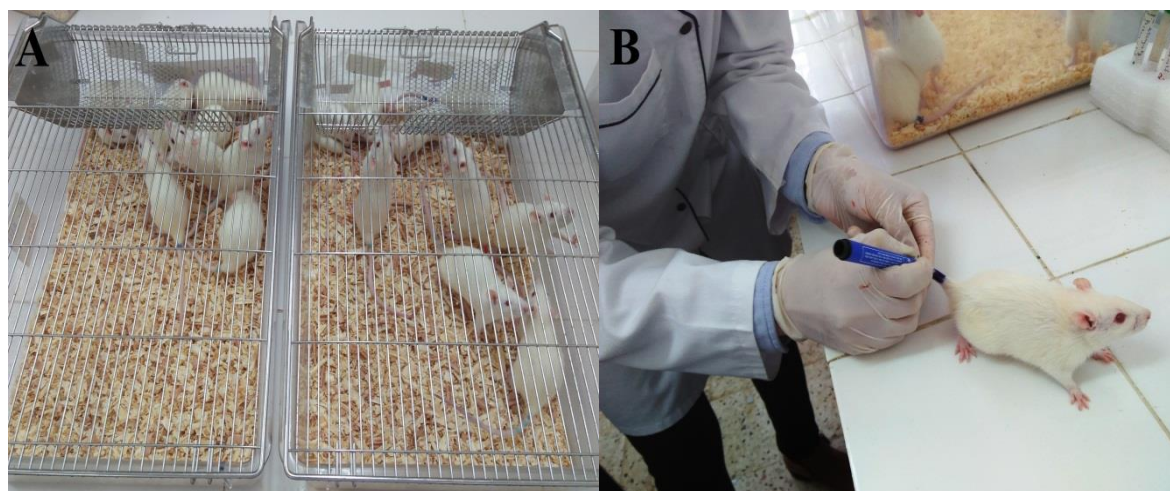
### I.1.2. Matériel animal

Les animaux d'expérience sont des rats femelles blanches de la souche *Wistar albinos* en bonne santé, pesant entre 81 et 196 g et provenant de l'animalerie de la Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université des frères Mentouri (Constantine).

Dès leur réception, les rats sont placés dans des cages en matière plastique ayant un couvercle en acier inoxydable, avec un accès libre à la nourriture et de l'eau.

Une épaisse couche de sciure est déposée au fond des cages, renouvelée tous les 2 à 3 jours pour assurer le bon état hygiénique des animaux.

L'identification individuelle des rats se fait par numérotation au niveau de la queue à l'aide d'un marqueur (**figure 20**).



**Figure 20** :Rats *Wistar albinos* A :Dans des cages B : Avec marquage (**Photos originaux**)

### I.1.3. Produits chimiques utilisés

Les produits ont été obtenus du magasin des produits chimiques de la Faculté des Sciences de la Nature et de la vie, Université des Frères Mentouri, Constantine, Algérie.

Dans cette étude nous avons utilisé les produits et les réactifs suivants :

Ether de pétrole, méthanol( $\text{CH}_3\text{OH}$ ), éthanol, acétone, hydroxyde de sodium ( $\text{NaOH}$ ), Acide chlorhydrique ( $\text{HCl}$ ), Chlorure de Mercure ( $\text{HgCl}_2$ ), Iodure de Potassium ( $\text{KI}$ ), chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ), acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), anhydride acétique ( $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3$ ), sulfate de cuivre ( $\text{CuSO}_4$ ), tartrate double de sodium et de potassium, hydroxyde de potassium ( $\text{KOH}$ ), le

réactif de Folin-Ciocalteu, carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ), 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle (DPPH), ferricyanure de potassium ( $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ), phosphate Monosodique ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ), phosphate disodique ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), acide trichloroacétique (TCA), glucose ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ), alcool.

#### Solutions standards utilisées :

Acide gallique ( $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$ ), la rutine ( $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$ ), Acide ascorbique ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ ), Glucophage® (Metformine).

## I.2.Méthodes

### I.2.1. Broyage

Les graines de *Silybum marianum* ont été broyées dans un mixeur jusqu'à l'obtention d'une poudre moins fine pour la préparation des 2 extraits.

Les feuilles ont été séchées durant 20 jours sur papier naturellement à l'ombre pour préserver au maximum l'intégrité des molécules puis découpées en petits morceaux et par la suite broyées à l'aide d'un mixeur jusqu'à l'obtention d'une poudre moins fine pour la préparation des 2 extraits (**Figure 21**).



**Figure 21** : **A** :Les graines et **B** :feuilles de *Silybum marianum* après broyage (**Photos originaux**)



## I. 2.2. Préparation des extraits végétaux

Les extraits bruts ont été obtenus par extractions successives, avec des solvants de polarités croissantes. Dans cet ordre, nous avons utilisé l'éther de pétrole, le méthanol + l'eau distillée.

La macération (extraction solide-liquide) est une opération qui consiste à laisser séjourner un corps solide (matière végétale) (broyat) dans un liquide pour extraire certains principes actifs de ce corps.

L'extraction par l'éther de pétrole a pour but d'éliminer la chlorophylle ainsi que les substances lipophiles et la deuxième extraction a été faite avec le méthanol qui extrait les composés polaires.

### I. 2.2.1. Préparation de l'extrait de l'éther de pétrole

Après le broyage des graines de la plante, nous avons ajoutés un volume de l'éther de pétrole à 650g de graines, après une macération de 24 heures à température ambiante.

Le mélange est filtré sous vide à l'aide d'un Büchner sur un papier filtre et on obtient le filtrat étheré (Figure 22).

La même méthode avec les feuilles mais nous avons utilisés 140g de matière végétale.



Figure 22 : Les filtrats étheré A : des graines et B, C : pour les feuilles (Photos originaux)

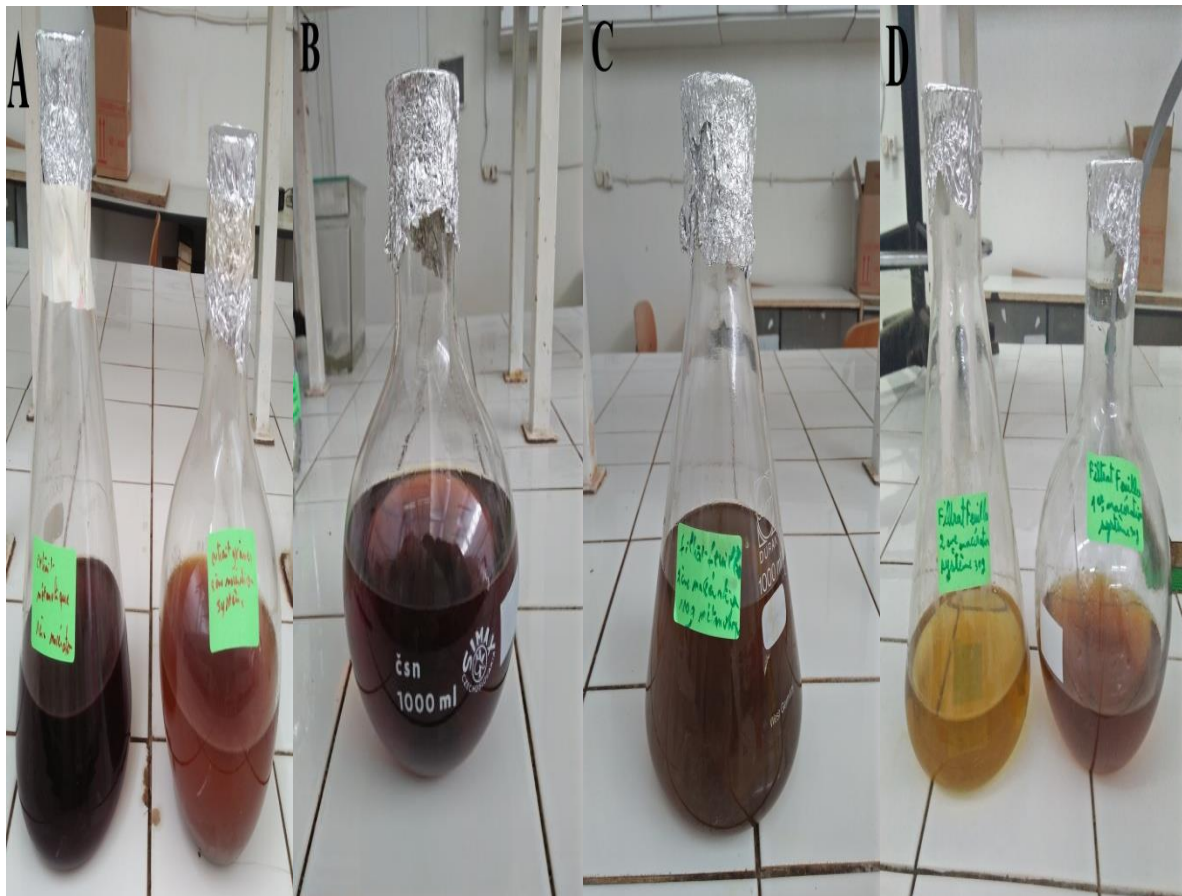
L'extrait de l'éther de pétrole évaporé à l'aide de rota-vapeur (**Buchi.R-210**) dans une température de 40°C et de nombre de tour 300 tour/min, l'extrait récupéré sous forme d'une pâte dans les boîtes de pétri.

### I.2.2.2. Préparation de l'extrait hydro-alcoolique

La matière végétale (graines et feuilles) a été mise à macérer dans le système solvant suivant : 7 volumes de méthanol + 3 volumes de l'eau distillée pendant 24 heures à température ambiante.

Le mélange est filtré sur un papier filtre et on obtient le filtrat méthanolique.

L'opération est répétée deux fois avec renouvellement de système solvant toute les 24 heures pour extraire le maximum de molécules chimiques contenues dans la plante (**Figure 23**).



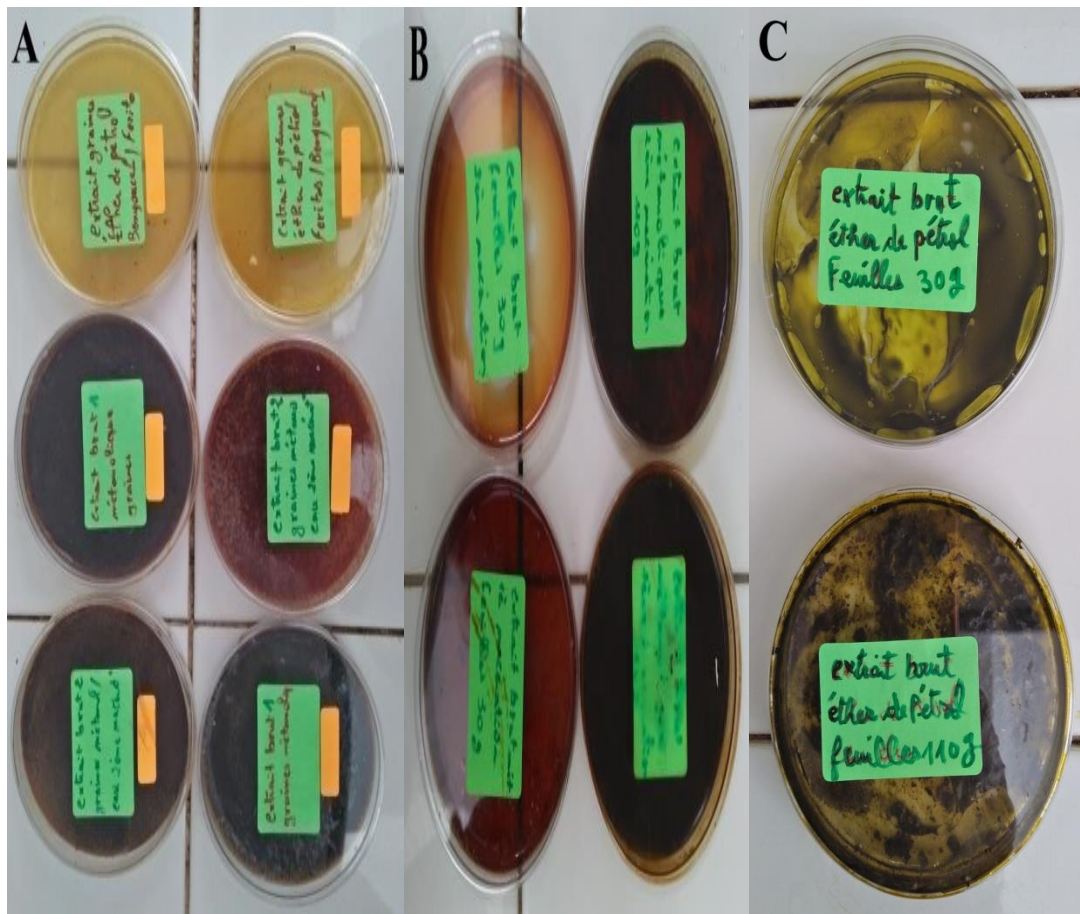
**Figure 23** : Les filtrats méthanolique A : des graines et B, C, D : pour les feuilles (Photos originaux)



Les deux fractions filtrées sont regroupées et évaporées à l'aide de rota-vapeur (**Buchi.R-215**) dans une température de 40°C et de nombre de tour 300tour/min.

L'extrait hydro-alcoolique récupéré sous forme d'une pate dans les boites de pétri.

Les extraits réalisés sont ensuite stockés à température -4°C, à l'abri de la lumière jusqu'à leur utilisation (**Figure 24**).



**Figure 24** : Les extraits bruts A : des graines et B, C : pour les feuilles (Photos originaux)

Les différentes étapes du protocole d'étude expérimentale sont résumées dans la **figure 25**

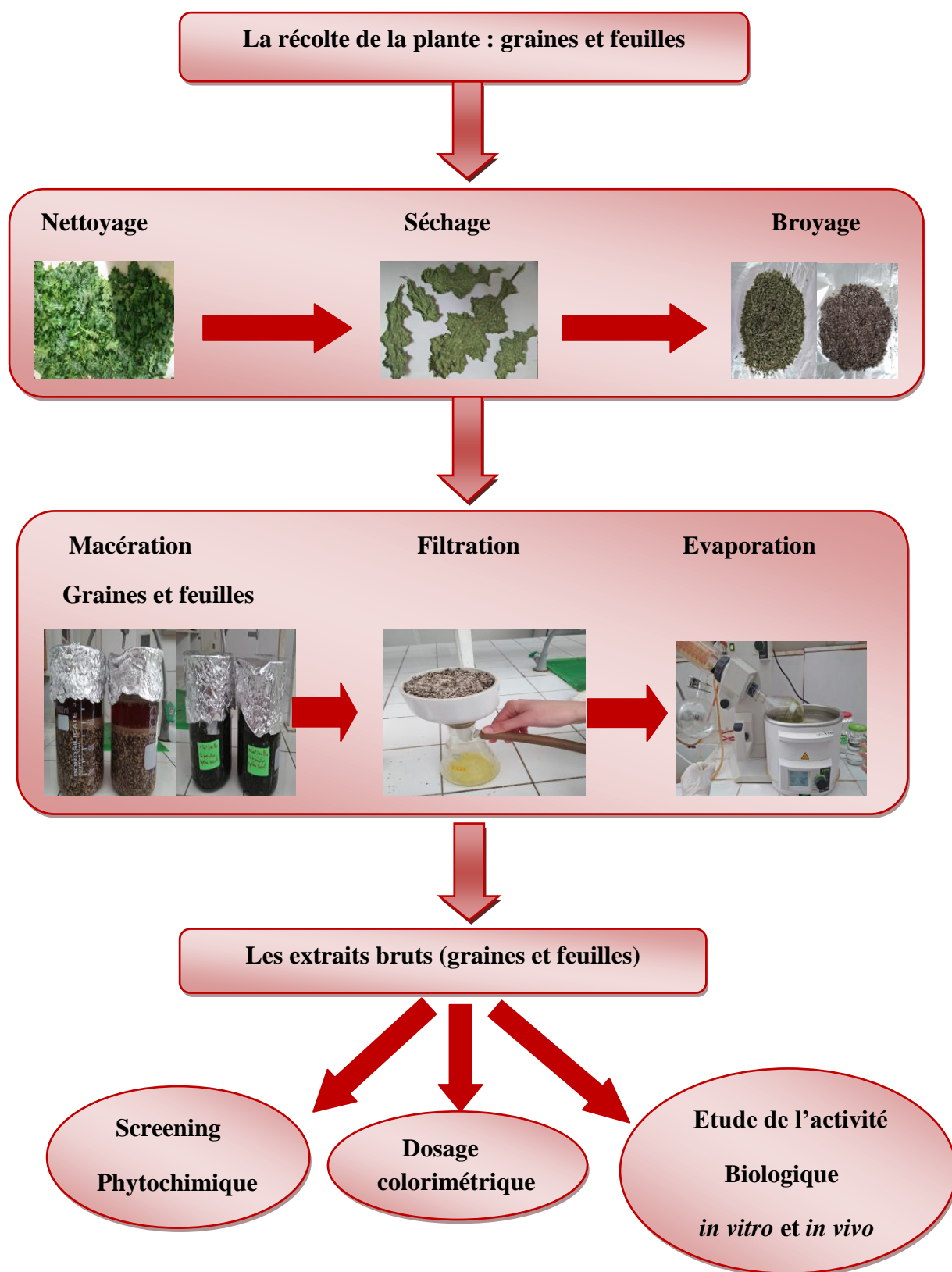


Figure 25: Protocole d'étude expérimentale

### I.2.3.Criblage « screening » phytochimique

Ce terme screening, correspond à une technique de « criblage » c'est-à-dire la recherche systématique des produits (Aissous .A et Bechara .R,2016 ; Letkesses. HE et Ladraa .I, 2017).

Le criblage phytochimique est une analyse qualitative basée sur des réactions de précipitations et / ou de colorations.

Les métabolites secondaires sont mis en évidence par une étude phytochimique qui consiste à caractériser les différentes familles de molécules existantes dans une plante (Bruneton. J, 1999).

#### I .2.3.1.Test des quinones libres

Un gramme de matériel végétal sec est broyé et placé dans un tube sec avec 15 à 30ml d'éther de pétrole. Après agitation et un repos de 24 h, les extraits sont filtrés et concentrés au rotavapor. La présence de quinones libres est confirmée par l'ajout de quelques gouttes de NaOH 1/10, lorsque la phase aqueuse vire au jaune, rouge ou violet (Dohou. N et al, 2003).

#### I.2.3.2.Test des alcaloïdes

Test fondé sur la capacité qu'ont les alcaloïdes à se combiner avec les métaux lourds

Test de Mayer :

L'extrait méthanolique est repris dans quelques ml d'HCl 50 %.

La formation d'un précipité jaune, après ajout de quelques gouttes du réactif de Mayer, témoigne de la présence d'alcaloïdes (Dohou. N et al, 2003).

#### I.2.3.3.Test des Tanins

1,5 g de matériel végétal sec sont placés dans 10 ml de MeOH 80 %. Après 15 minutes d'agitation, les extraits sont filtrés et mis dans des tubes secs. L'ajout de FeCl<sub>3</sub> à 1 % permet de détecter la présence ou non des tanins. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiqes (Dohou.N et al, 2003).

#### **I.2.3.4. Test des tanins vrais**

Un aliquote d'extrait repris dans 2ml d'eau distillée, ajouter quelques gouttes d'HCl concentré le tout est chauffé au bain marie bouillant, la formation d'un précipité rouge indique un test positif (Yves-Alain.B et al, 2007).

#### **I.2.3.5. Test des saponines**

Leur présence est déterminée quantitativement par le test de la mousse, dans des conditions déterminées, l'extrait repris dans 5ml d'eau distillée, puis introduit dans un tube à essai est agité vigoureusement, la formation d'une mousse (hauteur supérieur de 1cm) stable persistant pendant 15 min, indique la présence de saponines (Yves-Alain. B et al, 2007).

#### **I.2.3.6. Test des stérols et poly-terpènes**

Ont été recherchés par la réaction de Liebermann. Le résidu est dissout dans 1 ml d'anhydride acétique ; nous avons ajouté 0,5 ml d'acide sulfurique concentré au triturât. L'apparition, à l'interphase, d'un anneau violet, virant au bleu puis au vert, a indiqué une réaction positive (koffi. N et al, 2009).

#### **I.2.3.7. Test des flavonoïdes (Cyanidine)**

L'extrait méthanolique dissout dans 1ml HCl et quelques copeaux de magnésium, l'apparition d'une coloration allant de l'orangé au rouge pourpre indique une réaction positive (Najjaa. N et al, 2011).

#### **I.2.3.8. Test des flavonoïdes glycosides**

Ils ont mis en évidence par l'ajout de 1 ml de KOH à 1 % à 2 ml de l'extrait méthanolique. L'apparition d'une coloration jaune indique la présence des flavonoïdes glycosides (Saima. H et al, 2014).

#### **I.2.3.9. Test de sucres réducteurs**

Les sucres réducteurs ont été mis en évidence dans les extraits par le réactif de Fehling. 5 ml d'extrait brut sont additionnés 5 ml de liqueur de Fehling. La formation d'un précipité rouge brique après 2-3 min de chauffage au bain-marie à 70°C indique une réaction positive (Yves-Alain. B et al, 2007).

### I.2.3.10. Test des phénols

2 ml de l'extrait méthanolique ont été mélangés avec 2 ml de l'éthanol à 96%.L'ajout de quelques gouttes de FeCl<sub>3</sub> permet l'apparition d'une coloration qui indique la présence de phénols (Najjaa. N *et al*, 2011).

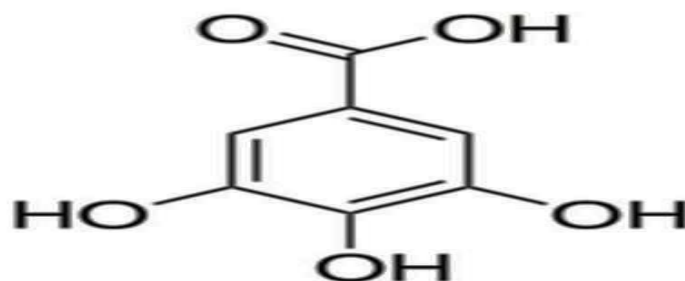
## I.2.4.Dosage colorimétrique (spectrophotométrique)

### I.2.4.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des poly-phénols totaux a été réalisé par le réactif de Folin-Ciocalteu selon la méthode de **Singleton et Rossi (1965)**. Le réactif, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>), est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes de tungstène (W<sub>8</sub>O<sub>23</sub>) et de molybdène (Mo<sub>8</sub>O<sub>23</sub>)(Clémentine.B *et al*, 2012).

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie, suivant le protocole appliqué en 2007 par **Li et ses collaborateurs**. 200µl d'extrait méthanolique (graines et feuilles) dilué est mélangé avec 1 ml de réactif de Folin Ciocalteu (FCR) dilué 10 fois dans de l'eau distillée. Après 4 minutes, 800µl de carbonate de sodium (7,5%) sont ajoutés, puis le volume est ajusté à 3 ml avec l'eau distillée, les tubes sont placés à l'obscurité pendant 2 heures à une température de 37°C, l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde 760nm.

Les concentrations des polyphénols de l'échantillon sont déterminées à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-0,1mg/ml) dont la formule chimique est présentée dans **la figure 26**.



**Figure 26** : Structure de l'acide gallique (acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque) ([www.espritsante.com](http://www.espritsante.com))

La formule suivante permet le calcul de la teneur en phénols totaux (Halmi.S,2015)

$$T = C \times \frac{V \times D}{P_s}$$

T : teneur en phénols totaux

C : concentration des polyphénols en équivalent d'acide gallique déduit de la courbe

V : Volume de l'extrait

D : facteur de dilution

P<sub>s</sub> : poids de la matière sèche.

#### I.2.4.2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont été mesurés par dosage direct par le trichlorure d'aluminium d'après une méthode adaptée de Lamaison et Carnat (1991) (Bahorun .T, 1997).

Le dosage consiste à prendre un volume de 2ml d'extrait méthanolique avec 2 ml d'AlCl<sub>3</sub> (2%), après incubation pendant 10mn à l'obscurité à 37°C, l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde 430nm (Madi. A et al ,2017).

Les concentrations des flavonoïdes de l'échantillon sont déterminées à partir une gamme d'étalonnage établie avec la Rutine (0-0,1 mg/ml) dont la formule chimique est présentée dans la figure 27.

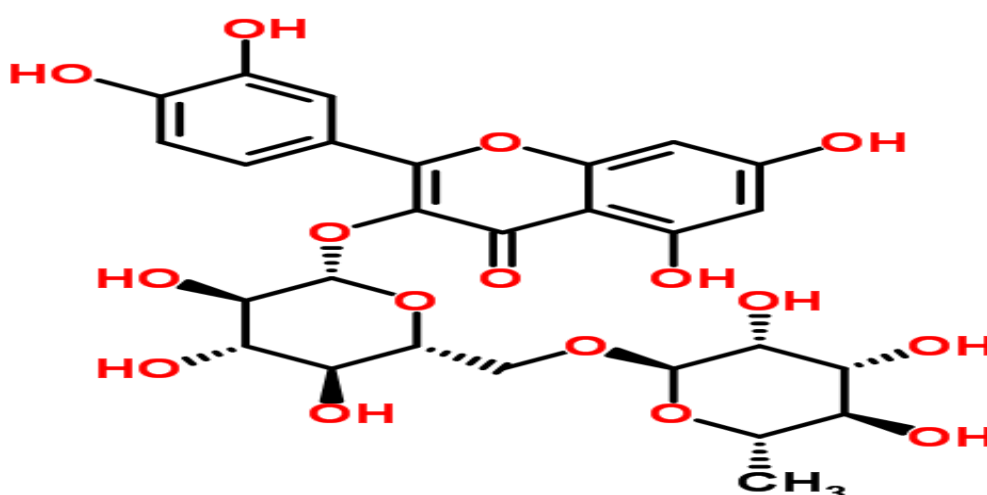


Figure 27 : Structure de la rutine (www.chemspider.com)

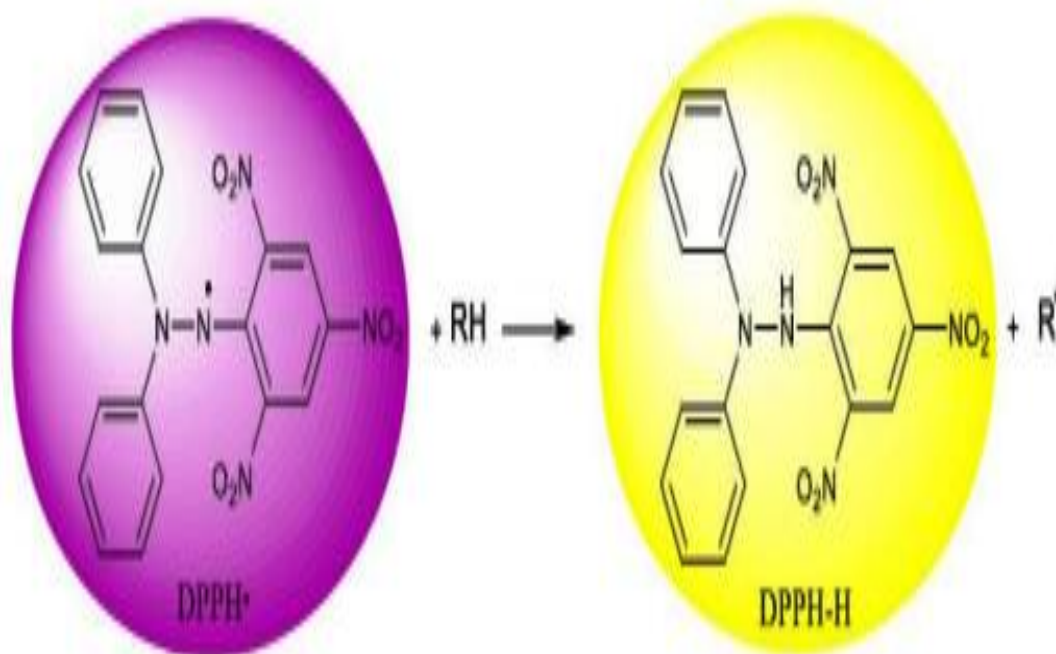


## I.2.5. Evaluation de l'activité biologique *in-vitro*

### I.2.5.1. Evaluation de l'activité antioxydante par le radical libre diphényl-picrylhydrazyle (DPPH)

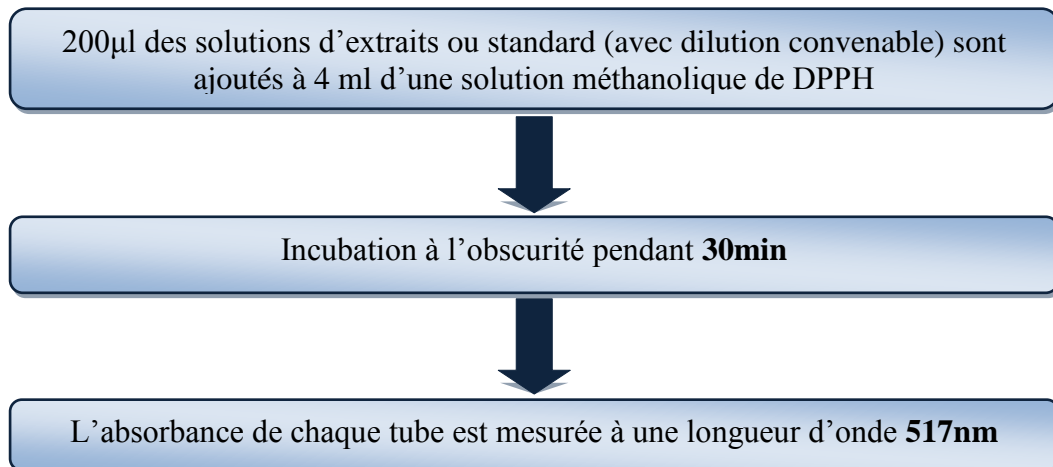
Le dosage spectrophotométrique utilisant le radical stable DPPH• (2,2-diphényl -2-picrylhydrazyl ou le  $\alpha$ - diphényl - $\beta$ -picrylhydrazyl) en tant que réactif est l'une des méthodes les plus utilisées pour déterminer l'activité anti-radicalaire d'un composé donné. En effet, le DPPH• est un radical libre relativement stable à température ordinaire, de couleur violette due à la délocalisation de l'électron non apparié sur l'atome d'azote du pont.

La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration violette qui est due à la réduction du radical DPPH• par l'antioxydant pour produire le 2,2-diphényl -1-picrylhydrazine (DPPH-H) de couleur jaune (**Figure 28**). Le changement de couleur du violet au jaune est mesurable par Spectrophotométrie à 515-520 nm (**Lahffar .O et Bensabeur.I, 2017**).



**Figure 28** : Réaction de réduction de DPPH• (**Lahffar .O et Bensabeur I, 2017**)





**Figure 29** : Protocole de l'activité antioxydante (Yilirdim.A et al, 2001)

Les résultats obtenus pour chaque extrait testé sont comparés à ceux obtenus pour l'Acide Ascorbique pris comme un antioxydant standard.

La capacité de piégeage du radical libre est ensuite calculée à travers le pourcentage d'inhibition en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ inhibition} = [(A_{\text{contrôle}} - A_{\text{d'extrait}}) / A_{\text{contrôle}}] \times 100$$

- $A_{\text{contrôle}}$ : absorbance du contrôle
- $A_{\text{d'extrait}}$ : absorbance du test effectué

#### Calcul des IC50

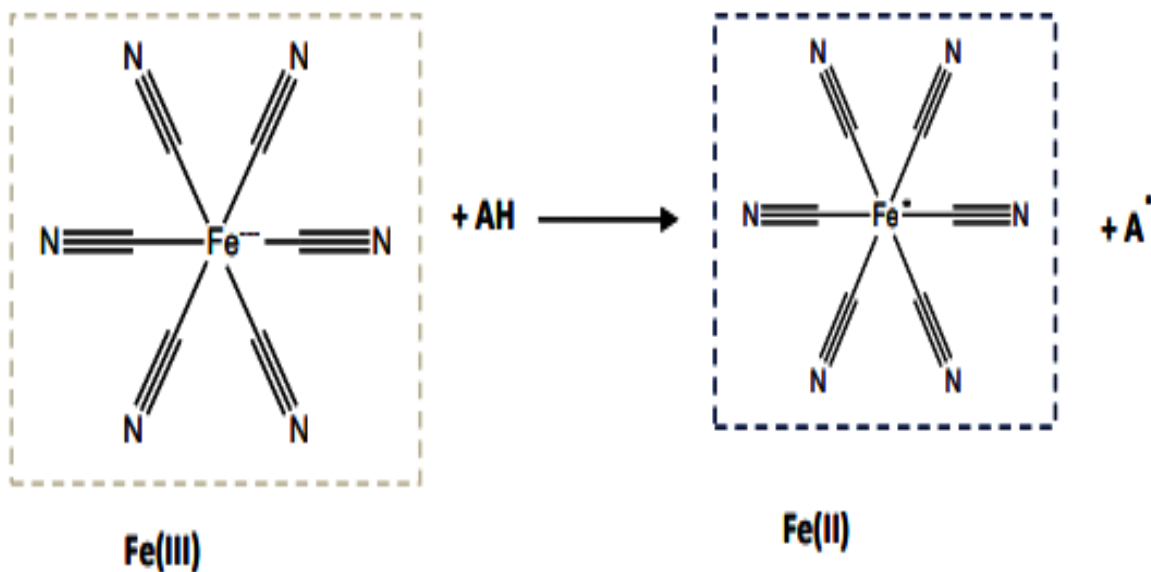
IC50 (concentration inhibitrice de 50 %), aussi appelée EC50 (Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH.

Les IC50 sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testées (Attou .A, 2011).

### I.2.5.2. Pouvoir réducteur du fer (Test FRAP: Ferric Reducing Antioxydant Power)

Ce test est un essai simple, rapide et reproductible; il est universel et peut être appliqué aussi bien chez les plantes que les plasmas et dans les extraits organiques et aqueux (Fagbohoun .L, 2014).

La méthode FRAP est basée sur la réaction de réduction du  $\text{Fe}^{3+}$  présent dans le complexe ferrocyanure de potassium en  $\text{Fe}^{2+}$  par un antioxydant, la réaction est révélée par le virement de couleur jaune du fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) en couleur bleu vert du fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ), l'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 700 nm (Attou .A, 2011 ; Laichaoui .A, 2016). Le mécanisme réactionnel de la réduction de fer est expliqué dans la figure suivante :



**Figure 30 :** Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe ferricyanide ferrique Fe(III) et un antioxydant (AH) (Fagbohoun. L, 2014)

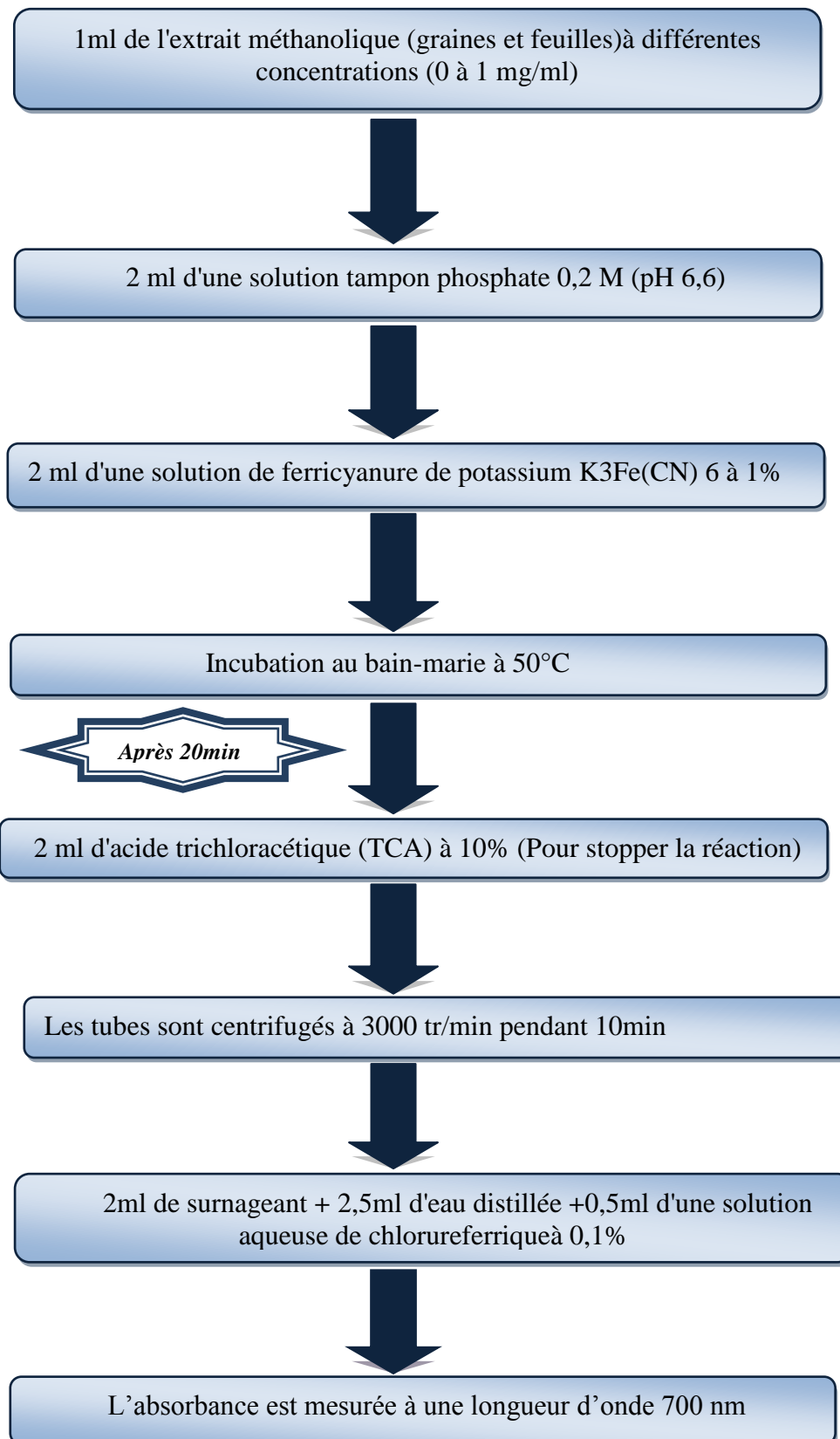


Figure 31 : Protocole du Pouvoir réducteur (Bentafar.S et Chaib.M ,2016)

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique (0-0,1mg/ml) dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons.

## I.2.6. Evaluation de l'activité hypoglycémiante et antihyperglycémiante de l'extrait méthanolique de *Silybum marianum*

### I.2.6.1. Préparation des solutions à base d'extrait brut méthanolique

La concentration de l'extrait brut méthanolique des graines et feuilles (250, 500 et 1000 mg/kg) est calculée en fonction du poids vif de l'animal et par la suite dilué dans l'eau distillée en fonction de la concentration désirée (**Figure 32**).



**Figure 32** : Solutions des graines et feuilles à différentes concentrations (**photo original**)

### I.2.6.2. Protocole expérimental

#### I.2.6.2.1. Essais chez des rats normoglycémiques

Les rats ont été mis à jeun pendant 16 heures, puis répartis en 4 groupes constitués chacun de 3 rats :

**Groupe 1:** Des rats témoins qui reçoivent par voie intrapéritonéale 0,5 ml de l'eau distillée.

**Groupe 2:** Des rats qui reçoivent par voie intrapéritonéale 0,5 ml d'extrait méthanolique de la plante à la dose de 250 mg/kg.

**Groupe 3:** Des rats qui reçoivent par voie intrapéritonéale 0,5 ml d'extrait méthanolique de la plante à la dose de 500 mg/kg.

**Groupe 4:** Des rats qui reçoivent par voie intrapéritonéale 0,5 ml d'extrait méthanolique de la plante à la dose de 1000 mg/kg (**Figure 33**).

La mesure de la glycémie des rats a été effectuée avant (à zéro heure « jeûne ») et après l'administration intrapéritonéale (IP) des extraits à différentes périodes (30 minutes, 1 heure, 2 heures et 3 heures) (**Oruambo.IF et al, 2010**).



**Figure 33:** Injection intra-péritonéale de l'extrait méthanolique (**photo original**)

#### **I.2.6.2.2. Essais chez des rats en hyperglycémie temporaire**

Les rats ont été mis à jeun pendant 16 heures, puis répartis en 5 groupes de 3 rats.

Après le jeûne, tous les animaux ont reçu 0,5 ml d'une solution de glucose à 50%, chacun par injection intra-péritonéale (IP) en utilisant une seringue à insuline.

**Groupe 1 :** A servi de témoin et chaque animal de ce groupe n'a reçu que la solution de glucose.

**Groupe 2:** Ces rats ont chacun reçu la même dose de solution de glucose et 0,5 ml d'extrait méthanolique à la dose de 250 mg/kg immédiatement après, également par IP.

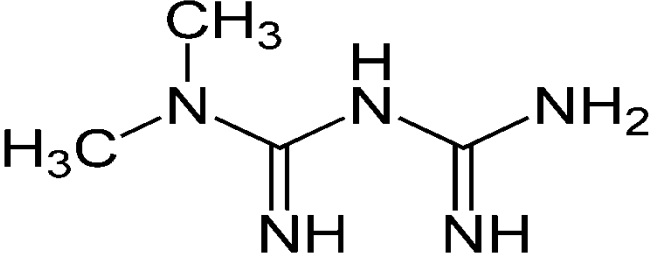
**Groupe 3 :** Ces rats ont chacun reçu la même dose de solution de glucose et 0,5 ml d'extrait méthanolique à la dose de 500 mg/kg immédiatement après, également par IP.

**Groupe 4 :** Ces rats ont chacun reçu la même dose de solution de glucose et 0,5 ml d'extrait méthanolique à la dose de 1000 mg/kg immédiatement après, également par IP.

**Groupe 5 :** Chacun a reçu la même solution de glucose et 0,5 ml d'une solution de glucophage (**Tableau 6**) à la dose de 100 mg/kg immédiatement après, également par voie IP.

Les concentrations de glucose sanguin sont mesurées avant le traitement à zéro heure (jeûne) et à des intervalles de temps de 30 minutes, 1 heure, 2 heures et 3 heures après chaque traitement (Oruambo. IF et al, 2010).

**Tableau 6 :** Propriétés chimiques de la metformine (Glucophage®)(www.fracademic.com)

La formule chimique	
Masse moléculaire	129.167 g/mol
Formule brute	C <sub>4</sub> H <sub>11</sub> N <sub>5</sub>
La demi-vie	2 à 6 heures
La biodisponibilité	50 à 60 %

### I.2.6.3. Mesures glycémiques


Tous les prélèvements sanguins pour le dosage de la glycémie sont effectués au niveau de la queue des rats. Après nettoyage de la queue à l'alcool, les rats sont piqués à l'aide d'une fine aiguille, une goutte de sang est récupérée puis déposée sur une bandelette pour lecture de la glycémie. (Lecteur Vital Check)(Figure 34).



**Figure 34 :** La mesure de la glycémie (photo original)







**Chapitre II**  
**Résultats et**  
**discussion**

Dans ce chapitre nous avons présenté tous les résultats obtenus au cours des expériences effectuées ainsi que leurs discussions.

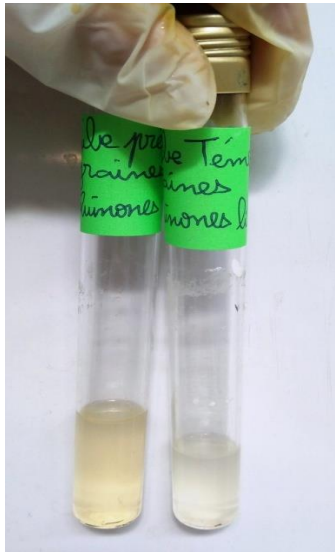
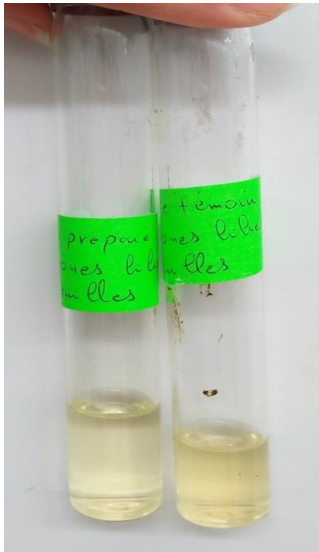
### II.1. Screening phytochimique







Les tests phytochimiques ont été réalisés sur l'extrait méthanolique et l'éther de pétrole de différentes parties (graines et feuilles) de la plante *Silybum marianum*.




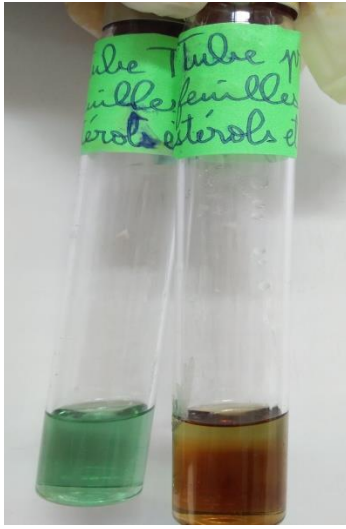


Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires dans notre extrait par des réactions qualitatives. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité, un changement de couleur spécifique ou un examen sous la lumière ultraviolette.

Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous.

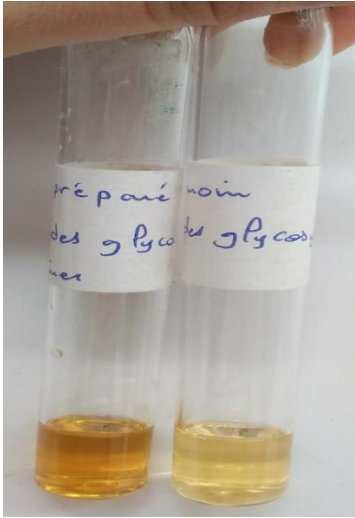
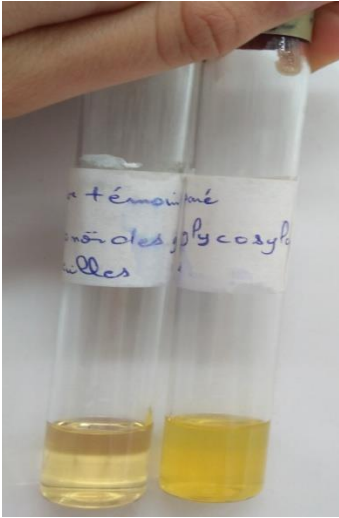

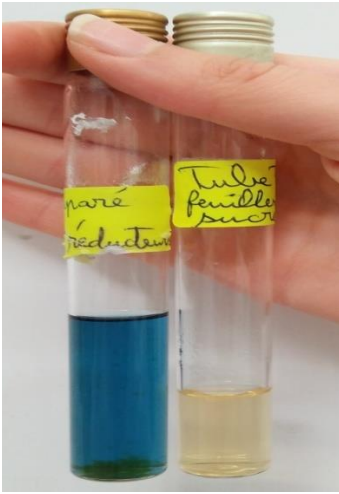

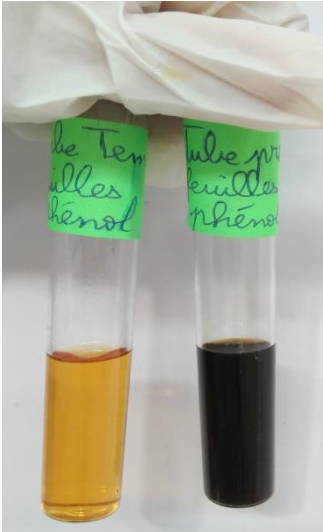
**Tableau 7:** Résultats de criblage phytochimique de l'extrait méthanolique et l'éther de pétrole (graines et feuilles) de *Silybum marianum*.

Le composé chimique	Graines		Feuilles	
	Présence / Absence	Résultat par rapport au témoin	Présence / Absence	Résultat par rapport au témoin
Quinones libres	-		-	

<p><b>Alcaloïdes</b> (test de Mayer)</p>	<p>-</p>		<p>-</p>	
<p><b>Tanins</b> (catéchiques)</p>	<p>+++</p>		<p>++</p>	
<p><b>Tanins vrais</b></p>	<p>+++</p>		<p>-</p>	

<p><b>Saponines</b></p>	<p>-</p>		<p>-</p>	
<p><b>Stérols et polyterpènes</b></p>	<p>+++</p>		<p>++</p>	
<p><b>Flavonoïdes</b></p>	<p>+++</p>		<p>+++</p>	



<p><b>Flavonoïdes glycosides</b></p>	<p>+++</p>		<p>++</p>	
<p><b>Sucres réducteurs</b></p>	<p>+++</p>		<p>-</p>	
<p><b>Phénols</b></p>	<p>+++</p>		<p>+++</p>	

- (+++) : Réaction fortement positive ;
- (++) : Réaction moyennement positive ;
- (+) : Réaction faiblement positive ;
- (-) : Réaction négative.

Les résultats des tests de la caractérisation chimique (**tableau 7**), montrent que cette plante renferme :

Les flavonoïdes qui sont observés dans les deux extraits (graines et feuilles) par une transformation de la couleur de solution en rouge intense en contact avec quelques copeaux de magnésium, les tanins vrais sont présent dans l'extrait des graines mais absent dans les feuilles, les tanins catéchiques à leur tour sont fortement présents dans l'extrait graines tandis que dans les feuilles ils ont moyennement présent.

On remarque aussi une présence majoritaire des phénols et des flavonoïdes dans les deux extraits (graines et feuilles).

La détection des sucres réducteurs est confirmée par la présence d'un précipité rouge brique dans l'extrait graines seulement.

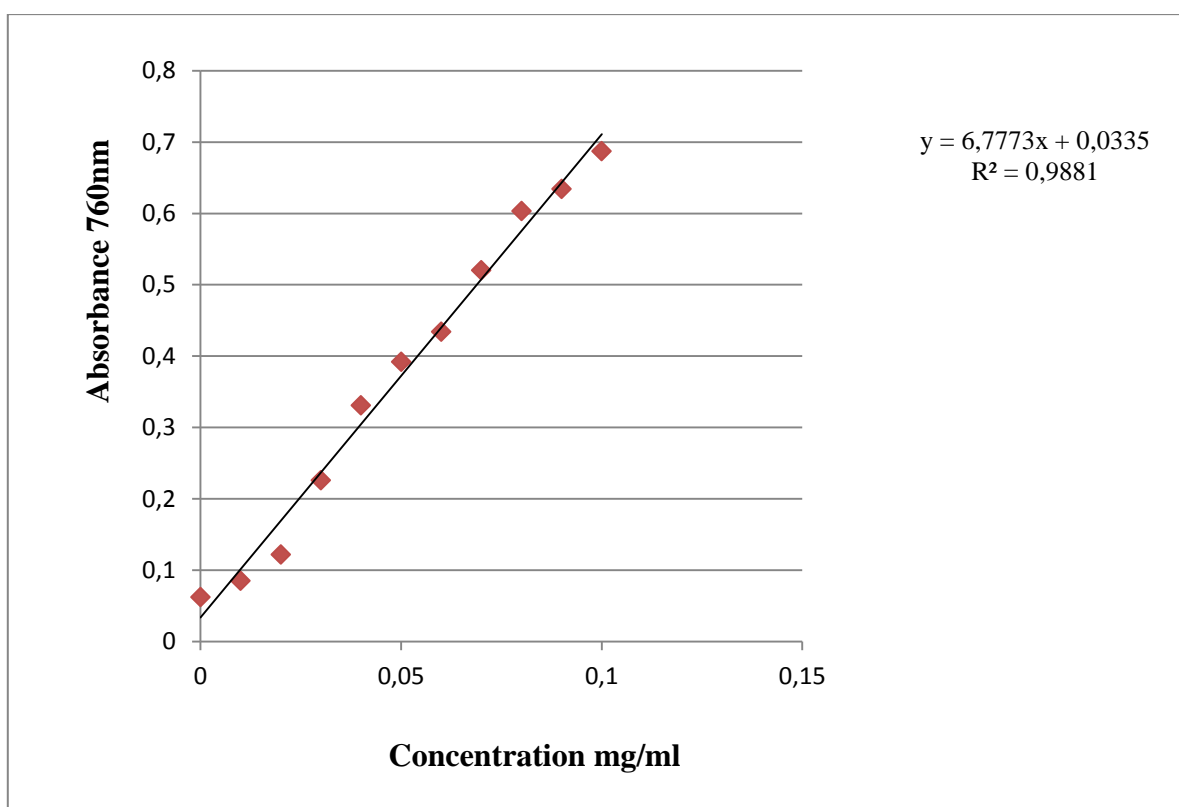
L'absence totale des quinones libres, alcaloïdes et des saponines dans les deux extraits à la fois

On constate d'après les résultats prévus dans le tableau au-dessus que les graines sont majoritairement riches en métabolites secondaires par rapport aux feuilles ceci est probablement dû à la complexité de ces composés, le type d'extraction et du solvant utilisé.

## II.2. Dosage spectrophotométrique

### II.2.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux des extraits de la plante *Silybum marianum*, est déterminée selon la méthode Folin-Ciocalteu. La quantification des polyphénols totaux a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y=ax+b$ ) réalisée par l'acide gallique à différentes concentrations (**Figure 35**).



**Figure 35** : Courbe d'étalonnage de l'Acide gallique



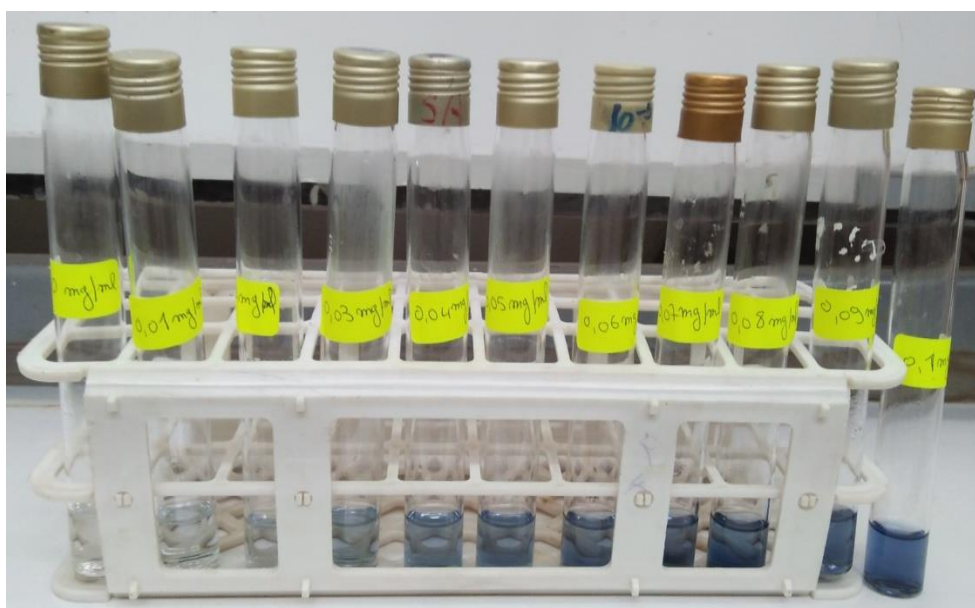


Figure 36 : Dosage des polyphénols

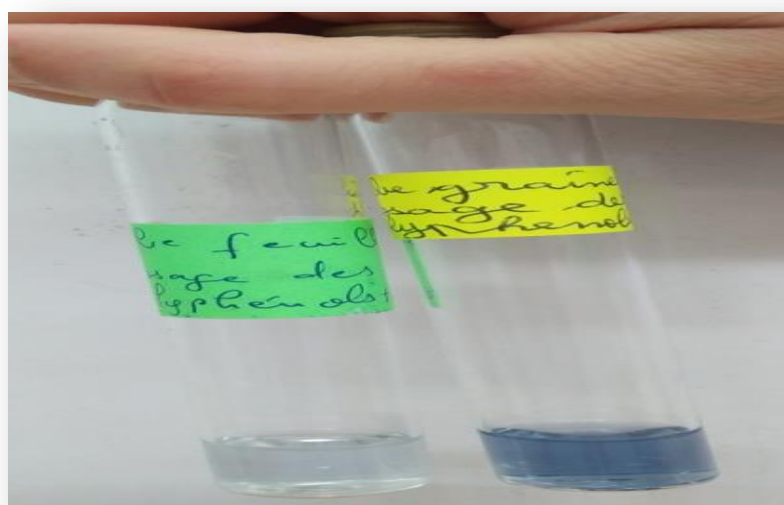


Figure 37 : Résultats de dosage des polyphénols totaux d'extrait méthanolique des graines et feuilles

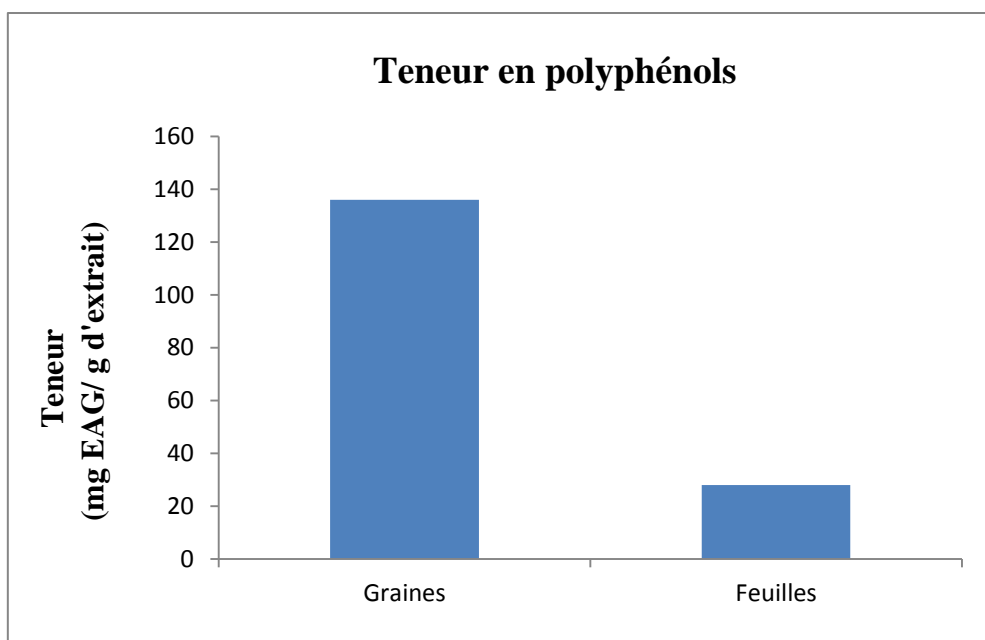
Les résultats obtenus exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait sont mentionnés dans le **tableau 8** :

	Extrait méthanolique graines	Extrait méthanolique feuilles
Teneur en polyphénols totaux (mg EAG/g d'extrait)	136	28

Les résultats exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g de matière sèche sont mentionnés dans le **tableau 9** :

	Extrait méthanolique graines	Extrait méthanolique feuilles
Teneur en polyphénols totaux (mg EAG/g MS)	15,035	5,985

D'après les **tableaux 8** et **9** il apparaît clairement que la teneur en poly-phénols est plus importante dans l'extrait méthanolique des graines en comparaison avec les feuilles.



**Figure 38** : Teneurs en phénols totaux pour les deux parties de la plante étudiée

D'après **la figure 38** on constate que les graines sont plus riche en polyphénols totaux que les feuilles.

L'étude réalisée par **Alaoui.S et al ,(2016)** montre que l'extrait éthanolique des graines contient un taux de polyphénols égale à 45,31 mg EAG/ g MS.

Les résultats de **Mhamdi.B et al ,(2016)** ont révèlé un taux des polyphénols dans l'extrait méthanolique des graines est égale à 29 mg EAG/g d'extrait .

**Ben rahal. N, (2012)** a trouvé un taux de plyphénols de l'ordre de 14.7 mg EAG/g d'extrait (graines) mais avec le soxhlet.

En comparaison avec nos résultats, la teneur des polyphénols totaux des feuilles est nettement inférieur à celle mentionnée par **Benchaachoua .A et al ,(2018)** 18.75 mg EAG/g d'extrait.

Ces différences notables reviennent également à la complexité de ces composés, le type et la concentration du solvant, la méthode d'extraction, la différence de la période et la région de récolte.

### II.2.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode colorimétrique de trichlorure aluminium  $AlCl_3$ . La Rutine considérée comme contrôle positif a permis de réaliser une courbe d'étalonnage, d'où on a calculé la teneur en flavonoïdes de l'extrait méthanolique des deux parties de la plante qui est exprimé en mg équivalent de Rutine (ER) par g de matière végétale (Figure 39).

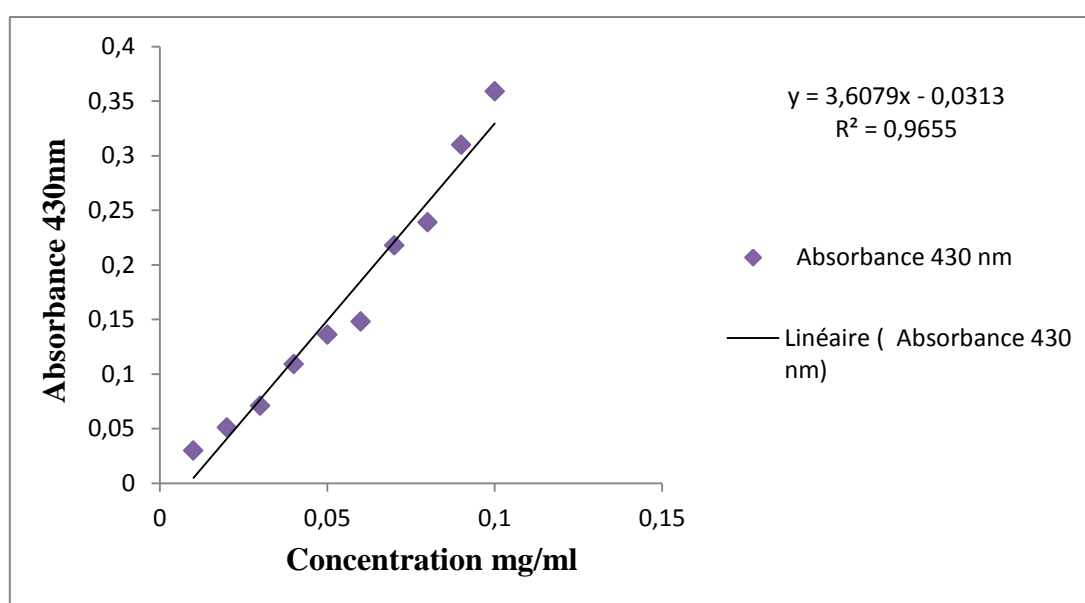
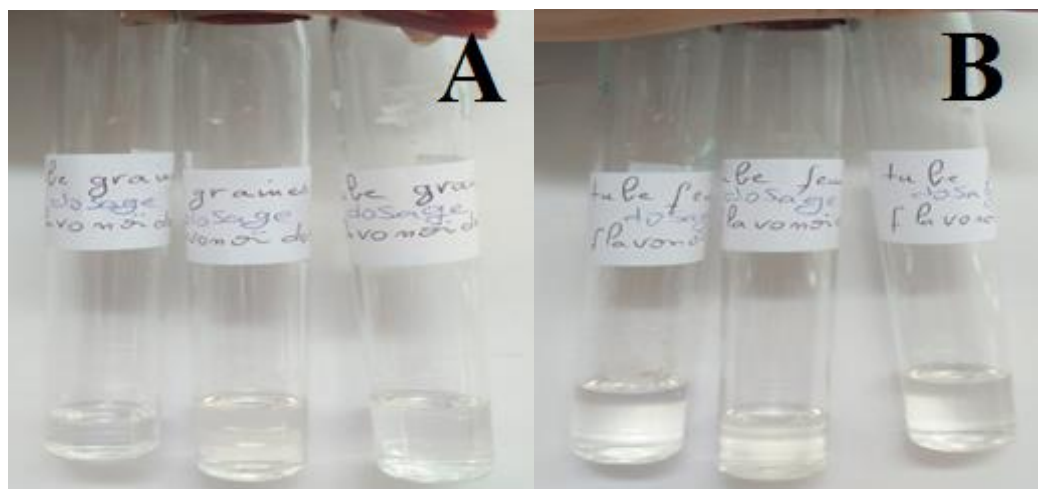


Figure 39: Courbe d'étalonnage de la rutine



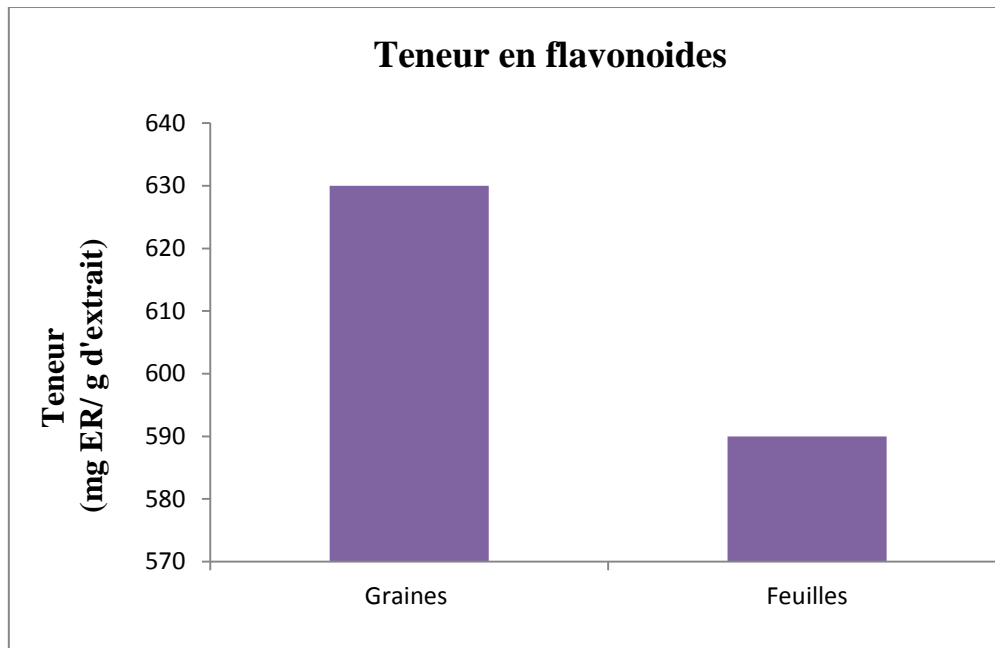
**Figure 40** : Résultats de dosage des flavonoïdes des extraits méthanolique **A**: graines. **B**: feuilles

À partir de la courbe d'étalonnage, les résultats de la teneur en flavonoïdes des deux parties (graines et feuilles) du *Silybum marianum* sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau 10**: Teneur des flavonoïdes d'extrait méthanolique des graines et des feuilles

	Graines	Feuilles
Teneur en flavonoïdes mg ER/g d'extrait	<b>630</b>	<b>590</b>

Les résultats sont présentés dans l'histogramme ci-dessous :



**Figure 41** : Teneurs en flavonoïdes pour les deux parties de la plante étudiée

D'après les résultats de **la Figure 41**, on remarque que les deux parties étudiées (graines et feuilles) ont des rendements plus importants en flavonoïdes.

Le travail effectué par **Alaoui.S et al ,(2016)** ont déclaré que la teneur des flavonoïdes dans l'extrait éthanolique des graines est égale à 33.23 mg ER/ g MS .

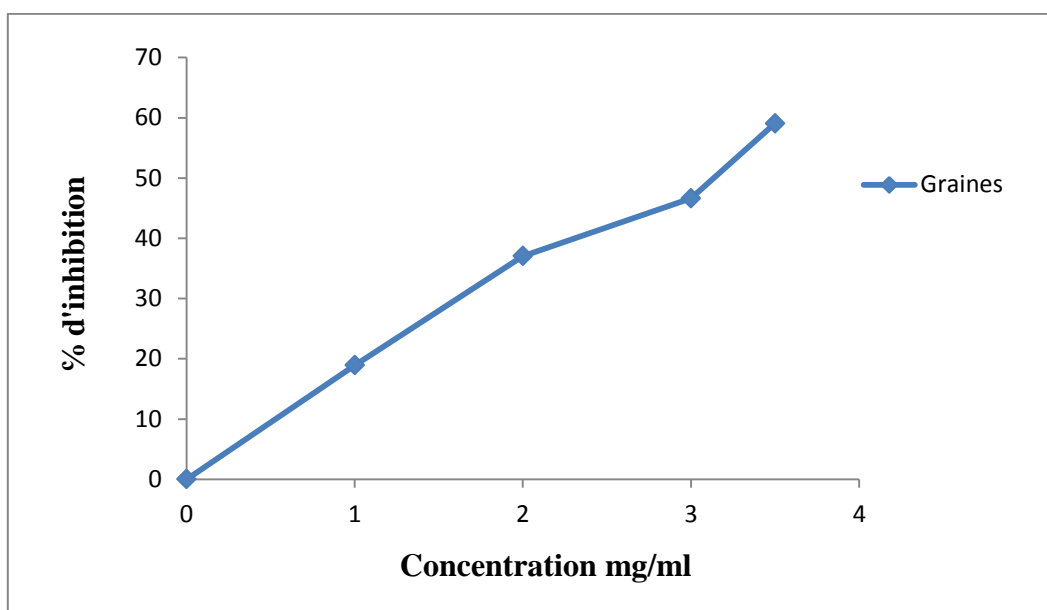
### II.3.Evaluation de l'activité biologique *in-vitro*

Dans cette partie, nous avons utilisé deux méthodes pour évaluer l'activité antioxydante *in vitro* de la plante étudiée à savoir : DPPH et FRAP.

### II.3.1. Evaluation de l'activité antioxydante par le radical libre diphényle-picryl-hydrazyle (DPPH)

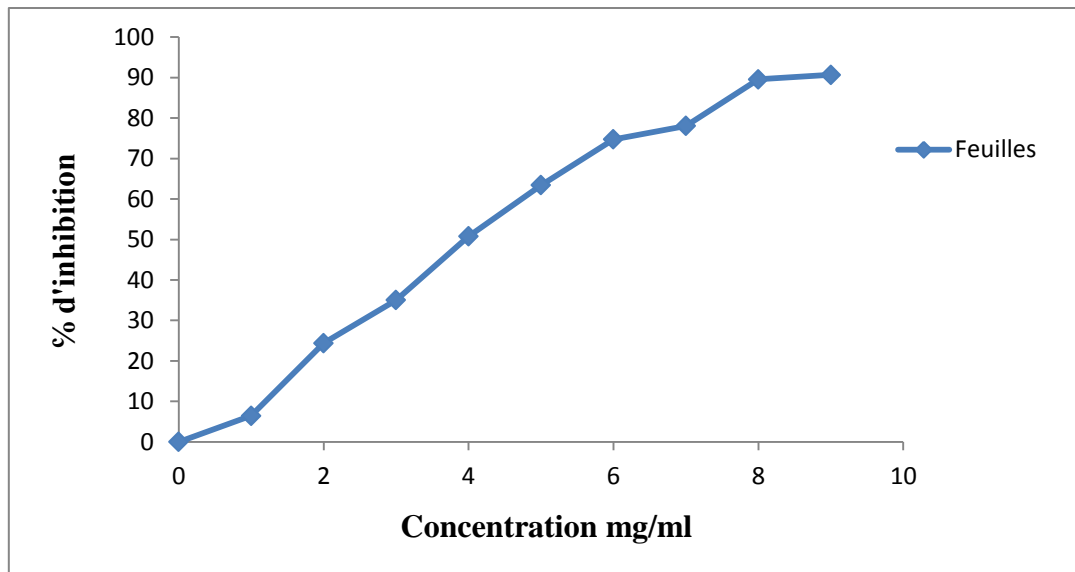
La mesure de l'absorbance (densité optique DO) a été effectuée par spectrophotométrie à 517 nm, à partir des valeurs obtenues, nous avons calculé les pourcentages d'inhibition en utilisant la formule donnée auparavant.

Les valeurs obtenues ont permis de tracer les courbes (**Figure 42 et 43**), qui représentent la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des extraits de la plante. Nous avons déterminé la concentration correspondante à 50 % d'inhibition (IC<sub>50</sub>), qui constitue l'activité anti-oxydante des extraits méthanoliques étudiés en utilisant la courbe de régression linéaire :  $y = a x + b$ .



**Figure 42 :** Courbe de pourcentage d'inhibition de l'extrait méthanolique des graines





**Figure 43 :** Courbe de pourcentage d'inhibition de l'extrait méthanolique des feuilles



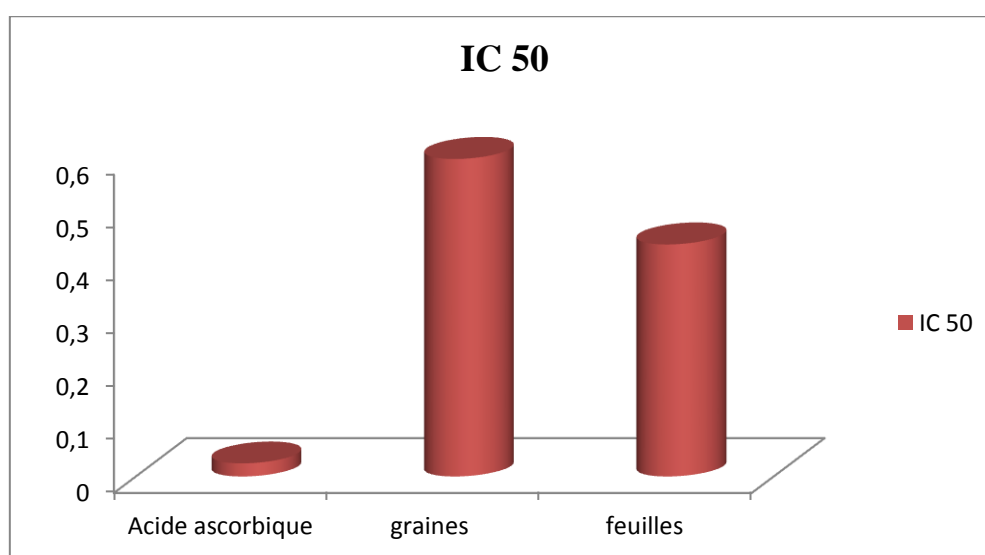
**Figure 44 :** Résultats d'activité anti-oxydante des extraits méthanoliques de la plante à différentes concentrations : A: graines, B: feuilles (Photos originaux)

### Evaluation de l'IC50

La valeur de l'IC50 est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée. Les valeurs des IC50 trouvées pour les deux extraits testés sont représentées dans le **tableau 11** et l'histogramme (**Figure 45**)

**Tableau 11** : Les valeurs IC50 d'extrait méthanolique et l'acide ascorbique

Echantillons	IC50 (mg/ml)
Acide ascorbique	0,025
Graines	0,598
Feuilles	0,438

**Figure 45** : IC50 de l'acide ascorbique et des extraits méthanoliques (graines et feuilles)

L'extrait méthanolique des graines de *Silybum marianum* est doté d'une activité antioxydante importante, leur IC50 est 0,598 mg/ml, mais elle est faible par rapport à la valeur d'acide ascorbique qui est de l'ordre de 0,025 mg/ml.

L'extrait méthanolique des feuilles de *Silybum marianum* est aussi doté d'une activité antioxydante importante, leur IC50 est 0,438 mg/ml, mais relativement faible que celle d'acide ascorbique dont la valeur est de l'ordre de 0,025mg/ml.

Aussi, nous avons remarqué que l'extrait méthanolique des feuilles est doté d'une activité inhibitrice plus forte que celle de l'extrait méthanolique des graines de notre plante.

Les résultats montrent que la quantité des antioxydants dans les feuilles est plus importante que celle présente dans les graines.

La capacité antioxydante était principalement corrélée aux composés phénoliques totaux et aux flavonoïdes mais nos résultats ne sont pas compatibles avec le dosage que nous avons appliqué où la teneur des polyphénols et flavonoïdes dans les graines est supérieur à celle des feuilles et cette différence peut être due au protocole que nous avons utilisé, aux conditions du travail soit dans les produits et l'équipement.

Les résultats de **Benchaachoua .A et al, (2018)** ont révélé que l'activité antiradicalaire des extraits de feuilles obtenus par macération et décoction était significativement influencée par la nature du solvant d'extraction.

Ces résultats ont été classés en deux groupes:

Le premier groupe: les extraits ayant des valeurs CI50 comprises entre 48,64 et 72,65  $\mu\text{g} / \text{ml}$ , ont des activités antioxydantes significatives, c'est le cas de: l'extrait aqueux par décoction (48,64  $\mu\text{g} / \text{ml}$ )> l'extrait aqueux d'éthanol par macération (65,15  $\mu\text{g} / \text{ml}$ )> l'extrait aqueux d'acétone par macération (72,65  $\mu\text{g} / \text{ml}$ ).

Le deuxième groupe de l'extraits ont montré une très faible capacité à récupérer le DPPH radical, avec des valeurs IC50 supérieures à 133,75  $\mu\text{g} / \text{ml}$  (l'extrait aqueux par macération (133,75  $\mu\text{g} / \text{ml}$ ) > l'extrait aqueux de méthanol par macération (165,28  $\mu\text{g} / \text{ml}$ ) > l'extrait aqueux de méthanol par décoction (218,79  $\mu\text{g} / \text{ml}$ ) > (l'extrait éthanolique par décoction (298,4  $\mu\text{g} / \text{ml}$ ) > l'extrait aqueux d'acétone par décoction (644,05  $\mu\text{g} / \text{ml}$ ).

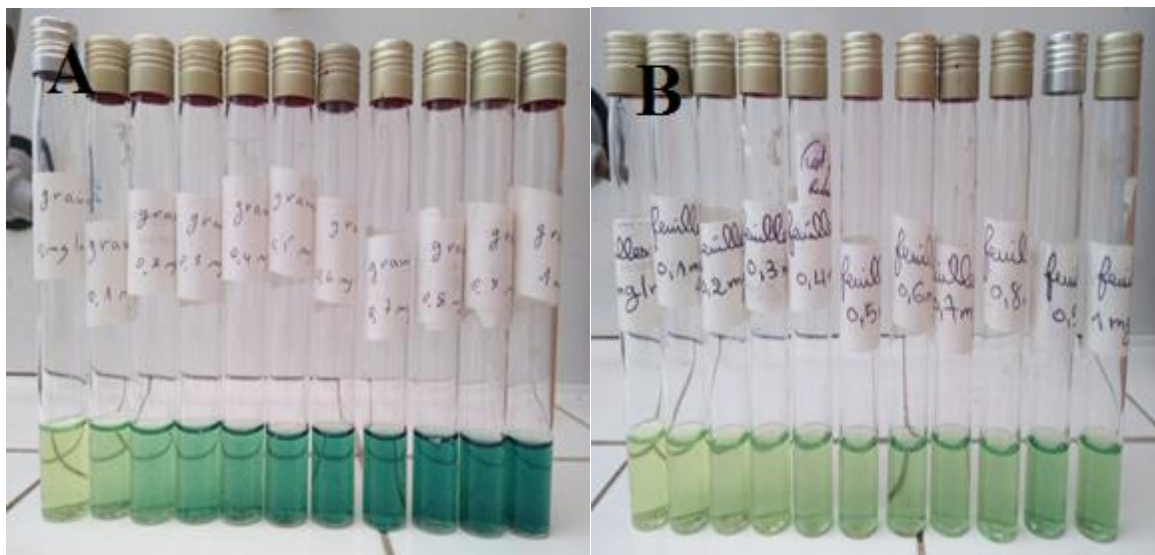
Tous les extraits testés étaient moins actifs que la CI50 de l'acide ascorbique (2,17 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ).

Le travail effectué par **Mhamdi .B et al, (2016)** ont déclaré que l'activité antiradicalaire de l'extrait méthanolique des graines par le test DPPH était importante (IC50 était de 39 $\mu\text{g} / \text{ml}$ ) en comparaison avec la valeur de IC50 du BHT (19,40  $\mu\text{g} / \text{ml}$ ).

### II.3.2. Pouvoir réducteur du fer (Test FRAP: Ferric Reducing Antioxydant Power)

L'activité anti-oxydante des extraits méthanolique de *Silybum marianum* ont été évalué en utilisant la méthode de FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power).

La présence des réducteurs dans les extraits de la plante provoque la réduction de  $Fe^{3+}$  complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent,  $Fe^{2+}$  peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700 nm (**Figure 46**) (**Chung .YC et al ,2002**).



**Figure 46** : Résultats de pouvoir réducteur des extraits méthanolique de la plante à différentes concentrations : **A**: graines, **B**: feuilles (**Photos originaux**)

A partir de nos résultats en traçant les courbes des absorbances obtenues pour chaque extrait et de standard (Figure 47 et 48).

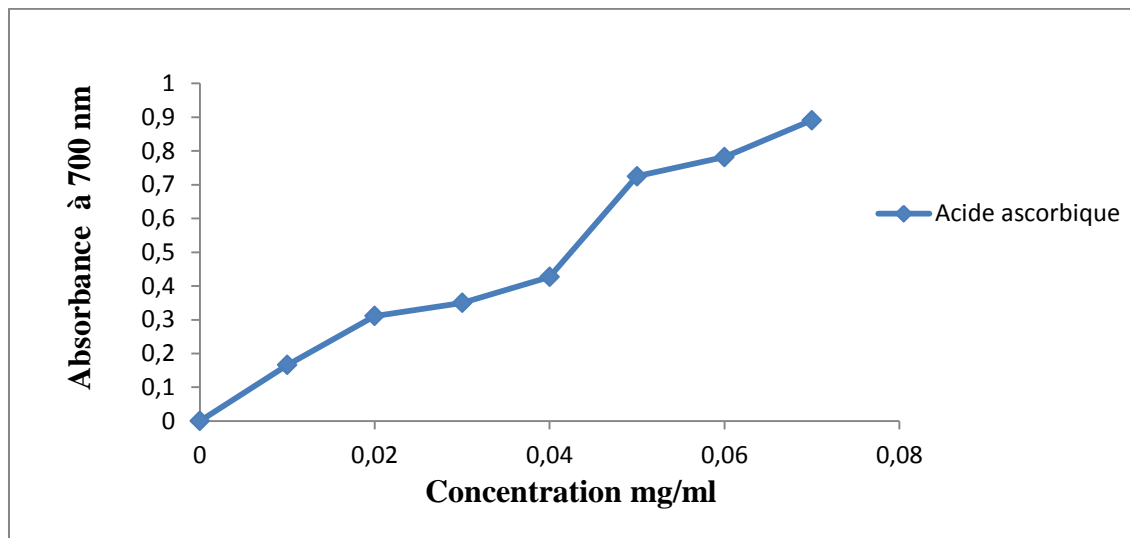


Figure 47 : Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique

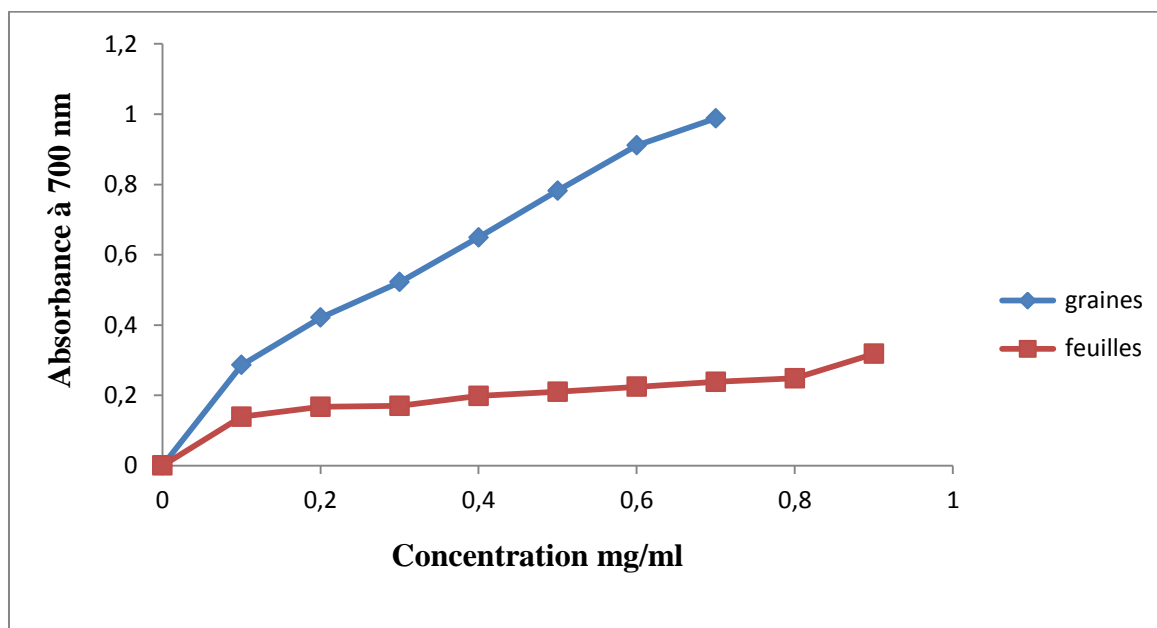


Figure 48 : Pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique de *Silybum marianum*

**Tableau 12 :** Les valeurs EC50 d'extrait méthanolique et l'acide ascorbique

Echantillons	EC50 (mg/ml)
Acide ascorbique	0,038
Graines	0,298
Feuilles	1,676

Selon les valeurs obtenues dans le tableau au-dessus :

Le pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique des graines est égale à 0,298, Ceci explique que nos extraits exercent une activité réductrice inférieure à celle du standard (l'acide ascorbique).

L'extrait méthanolique des feuilles donne une activité réductrice faible est égale à 1,676 en comparaison avec l'extrait méthanolique des graines et l'acide ascorbique (EC50 =0,038).

A partir de ces résultats, nous avons remarqué que l'extrait méthanolique des graines de *Silybum marianum* possède la meilleure activité réductrice que l'extrait méthanolique des feuilles. Donc on peut dire que, les composés réducteurs qui sont présents dans l'extrait des graines sont plus importants par rapport à l'extrait des feuilles.

Les résultats de **Mhamdi .B et al, (2016)** ont démontré que l'extrait méthanolique des graines de *Silybum marianum* présentait une capacité réductrice modérée avec une valeur EC50 environ 1 mg /ml par rapport à la valeur obtenue pour l'acide ascorbique (38µg ml<sup>-1</sup>).

Le pouvoir réducteur d'extrait de la plante est probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants (**Laraba .M et al, 2016**).

## II.4. Evaluation de l'activité hypoglycémiant et antihyperglycémiant de l'extrait méthanolique de *Silybum marianum*

### II.4.1. Evaluation de l'activité hypoglycémiant de l'extrait méthanolique de *Silybum marianum*

Le pouvoir hypoglycémiant ou l'activité hypoglycémiant est la capacité de certaines substances ou molécules à diminuer la glycémie après leur administration. L'insuline sécrétée par la cellule bêta des îlots de Langerhans du pancréas est la seule hormone hypoglycémiant naturelle ; dans cette partie on va déterminer le pouvoir hypoglycémiant de l'extrait méthanolique du *Silybum marianum*.

**Les tableaux 13 et 14** présentent les variations de la glycémie et le pourcentage de réduction chez les rats normoglycémiques suite à l'administration IP de l'extrait méthanolique des graines et feuilles à différentes doses (groupes testés) et de l'eau distillée (groupe témoin).

Chez les rats témoins qui reçoivent que l'eau distillée, la glycémie ne varie pas significativement pendant les trois heures d'étude.

L'administration IP de l'extrait méthanolique des graines pour chaque dose (250, 500 et 1000 mg/kg) entraîne une réduction significative de la glycémie avec un pourcentage de 35,42% ; 24,53% ; 26,67% respectivement.

De façon similaire, l'hypoglycémie induite par l'extrait méthanolique des feuilles nous a permis de remarquer une diminution significative de la glycémie qui apparait de façon importante après 3heures avec un pourcentage de 30,80% ; 13,69% ; 12,73% .

Donc à faible dose 250 mg/kg, l'efficacité de l'extrait est démontrée dans le pourcentage de réduction de la glycémie qui est atteint 35,42% pour les graines et 30,80% pour les feuilles .



**Tableau 13** : Effet de l'extrait méthanolique des graines de *Silybum marianum* sur la glycémie des rats normo-glycémique

Groupes		Glycémies (g/l)			
		30 min	1h	2h	3h
<b>Témoin</b>		0,65±0,01	0,60±0,13	0,54±0,08	0,53±0,13
<b>% de réduction</b>		0	7,69	16,92	18,46
<b>Extrait méthanolique des graines</b>	<b>250 mg/kg</b>	1,26±0,16	1,14±0,10	1,03±0,23	0,78±0,01
	<b>% de réduction</b>	0	5,00	14,17	35,42
	<b>500 mg/kg</b>	1,32±0,16	1,16±0,20	1,07±0,12	1,00±0,16
	<b>% de réduction</b>	0	12,37	19,62	24,53
	<b>1000 mg/kg</b>	1,13±0,28	1,01±0,34	1,00±0,22	0,83±0,40
	<b>% de réduction</b>	0	10,22	11,56	26,67

**Tableau 14 :** Effet de l'extrait méthanolique des feuilles de *Silybum marianum* sur la glycémie des rats normo-glycémique

Groupes		Glycémies (g/l)			
		30 min	1h	2h	3h
<b>Témoin</b>		0,65±0,01	0,60±0,13	0,54±0,08	0,53±0,13
<b>% de réduction</b>		0	7,69	16,92	18,46
<b>Extrait méthanolique des feuilles</b>	<b>250 mg/kg</b>	1,32±0,12	1,22±0,03	1,09±0,01	0,91±0,16
	<b>% de réduction</b>	0	7,22	17,49	30,80
	<b>500 mg/kg</b>	1,21±0,02	1,17±0,06	1,08±0,19	1,04±0,04
	<b>% de réduction</b>	0	3,32	10,79	13,69
	<b>1000 mg/kg</b>	1,11±0,08	1,06±0,27	1,03±0,38	0,96±0,04
	<b>% de réduction</b>	0	2,46	6,79	12,73

#### II.4.2. Evaluation de l'activité antihyperglycémiant de l'extrait méthanolique de *Silybum marianum*

Dans cette partie nous avons provoqué une hyperglycémie temporaire par une solution du glucose à 50% pour étudier le pouvoir antihyperglycémiant de l'extrait méthanolique des graines et feuilles à différentes doses (**tableau 15 et 16**).

Les tableaux 15 et 16 présentent les variations de la glycémie et le pourcentage de réduction chez les rats hyperglycémiques suite à l'administration IP du glucose et de l'extrait méthanolique des graines et feuilles à différentes doses (groupes testés) et du glucose + glucophage (groupe témoin).

Chez les rats témoins négatifs qui reçoivent que du glucose, la glycémie ne varie pas significativement pendant les trois heures d'étude.

Chez les rats témoins positifs qui reçoivent du glucose + glucophage, nous a permis de noter une diminution importante de la glycémie pendant les trois heures (13.63% ; 55.82% ; 57.81%).

L'administration IP de l'extrait méthanolique des graines pour chaque dose (250, 500 et 1000 mg/kg) entraîne une réduction significative de la glycémie qui apparait de façon importante après 3 heures avec un pourcentage de 43.33% ; 74.49% ; 52.85% respectivement.

D'autre part, l'administration IP de l'extrait méthanolique des feuilles nous a permis de remarquer une diminution significative de la glycémie avec un pourcentage de 34.49% ; 47.31% ; 46.36 %.

Donc à la dose 500 mg/kg, l'efficacité de l'extrait est démontrée dans le pourcentage de réduction de la glycémie qui est atteint 74.49% pour les graines et 47.31% pour les feuilles .

**Tableau 15** : Effet de l'extrait méthanolique des graines du *Silybum marianum* sur la glycémie des rats hyperglycémiques.

Groupes		Glycémies (g/l)			
		30 min	1h	2h	3h
Témoin négatif		1.38±0.43	1.22±0.12	0.99±0	0.91±0
% de réduction		0	11.56	28.52	34.3
Témoin positif (glucophage 100mg/kg)		1.50±0.10	1.3±0.14	0.95±0.4	0.74±0.07
% de réduction		0	13.63	33.69	57.81
Extrait méthanolique des graines	250 mg/kg	0.98±0.16	0.97±0.08	0.94±0.08	0.87±0.18
	% de réduction	0	41.22	43.04	43.33
	500 mg/kg	1.39±0.07	1.08±0.16	1.04±0.02	0.93±0.12
	% de réduction	0	35.61	36.4	74.49
	1000 mg/kg	1.58±1.08	1.08±0.36	0.9±0.22	0.74±0.04
	% de réduction	0	31.33	43.04	52.85

**Tableau 16** : Effet de l'extrait méthanolique des feuilles du *Silybum marianum* sur la glycémie des rats hyperglycémiques.

Groupes		Glycémies (g/l)			
		30 min	1h	2h	3h
<b>Témoin négatif</b>		1.38±0.43	1.22±0.12	0.99±0	0.91±0
<b>% de réduction</b>		0	11.56	28.52	34.3
<b>Témoin positif (glucophage 100mg/kg)</b>		1.50±0.10	1.3±0.14	0.95±0.4	0.74±0.07
<b>% de réduction</b>		0	13.63	33.69	57.81
<b>Extrait méthanolique des feuilles</b>	<b>250 mg/kg</b>	1.99±0.43	1.71±0.15	1.67±0.02	1.52±0.11
	<b>% de réduction</b>	0	15.14	28.02	34.49
	<b>500 mg/kg</b>	1.86±0.29	1.45±0.04	1.16±0.28	0.93±0.21
	<b>% de réduction</b>	0	17.85	32.56	47.31
	<b>1000 mg/kg</b>	2.5±0.69	2.17±0.14	1.26±0.007	1.25±0.02
	<b>% de réduction</b>	0	13	37.07	46.36


Des études réalisées par **Monica.Buca et al, (2016)** et **Ningbo.Qin et al, (2017)** ont montré que l'extrait des graines du *Silybum marianum* réduit la glycémie chez des rats diabétiques.

**Ahmed saber Abu zaiton, (2013)** révèle que l'extrait éthanolique des feuilles du *Silybum marianum* à la dose de 400 mg / kg entraine une réduction de la glycémie à jeun chez des rats diabétiques avec une valeur de 38,42%.

**Ghasal Vessal et al, (2010)** ont déclaré que l'extrait des graines du *Silybum marianum* à la dose de 60 mg/kg peut atténuer l'effet antihyperglycémique mais de façon modérée avec des valeurs de glycémie estimées de 524.3mg/dl par rapport au témoin 562.9mg/dl.

**Talaat Elgarf.A et al., (2015)** ont montré que l'administration de 140 mg de Silymarine (3 fois par jour pendant 90 jours) était supérieure au traitement standard seul pour améliorer la glycémie et la résistance à l'insuline.

D'après nos résultats, on remarque que l'extrait méthanolique des graines présente un bon potentiel hypoglycémiant et anti-hyperglycémiant par rapport aux feuilles.



*Conclusion  
générale*



Les plantes médicinales de la nature présentent une source indéfinie des molécules bioactives, ces molécules résultant de métabolites secondaires produits à partir de métabolisme des nutriments, que sont très utilisées par l'homme dans les domaines médicinales. Dans le cadre de la valorisation de ces ressources, Une plante médicinale *Silybum marianum* a fait l'objet d'une étude phytochimique de ses extraits, de son potentiels antioxydant et de son activité antihyperglycémique et hypoglycémique.

Dans le présent travail, le screening phytochimique réalisé, a révélé la richesse de notre plante en métabolites secondaires, où nous avons constaté la présence des flavonoïdes, des stéroïdes et polyterpènes, des phénols, des tanins vrais et catéchiques, et des sucres réducteurs.

L'estimation quantitative des polyphénols et des flavonoïdes totaux dans les deux extraits analysés montrent qu'ils sont riches en ces métabolites. La teneur en polyphénols dans l'extrait méthanolique des graines est égale à 136 mg EAG/g d'extrait, concernant l'extrait méthanolique des feuilles la teneur en polyphénols est de l'ordre de 28 mg EAG/g d'extrait. D'autre part la teneur des flavonoïdes totaux dans l'extrait méthanolique des graines a montré une valeur égale à 630 mg ER/g d'extrait, Tandis que la teneur des flavonoïdes dans l'extrait méthanolique des feuilles révèle une teneur égale à 590 mg ER/g d'extrait. On conclue que la plante est plus riche par les flavonoïdes que les polyphénols.

L'activité anti-oxydante des extraits de *Silybum marianum* L a été évaluée par méthodes de piégeage de radical libre DPPH.

Les résultats ont montré que les deux extraits méthanoliques possèdent une activité anti-oxydante relativement faible par rapport au standard avec des IC50 de l'ordre de 0,598 mg/ml pour les graines, et de 0,438mg/ml pour l'extrait méthanolique des feuilles.

Selon les résultats obtenus dans cette étude, nous pouvons conclure que l'extrait méthanolique des feuilles a une activité anti-oxydante plus forte que celle de l'extrait méthanolique des graines, l'activité anti-radicalaire est dépendante du contenu en flavonoïdes et en polyphénols totaux des extraits mais nos résultats ne sont pas compatibles avec le dosage que nous avons appliqué. L'étude du pouvoir antioxydant par une méthode basé principalement sur la capacité de l'extrait à donner un électron tout en convertissant le fer de la forme  $Fe^{3+}$  à la forme  $Fe^{2+}$ . Pour confirmer les propriétés puissantes que possèdent les flavonoïdes à piéger les radicaux libres.

L'extrait méthanolique de *Silybum marianum* L exerce la meilleure activité réductrice de l'ordre de 0,298mg /ml pour les graines, par rapport à l'extrait méthanolique des feuilles avec une valeur de l'ordre de 1,676mg/ml, mais ces activités sont relativement faible par rapport à l'activité réductrice de l'acide ascorbique (EC50=0.038 mg/ml).

Nous avons également évalué l'activité hypoglycémique et antihyperglycémique de ces extraits sur un modèle animal. Cette étude a permis de démontrer une activité hypoglycémiant et antihyperglycémiant importante de l'extrait méthanolique des graines chez les rats hypoglycémiques et hyperglycémiques par rapport aux feuilles dès la dose de 500mg/kg. Ce résultat pourrait être expliqué par la présence de molécules bioactives avec des mécanismes d'action différents.

La marge de l'extrait méthanolique des graines est encourageante pour la prise en charge du diabète.

En perspectives, des études à l'échelle moléculaire sont nécessaires pour déterminer les composés de *Silybum marianum* L notamment ce qui concerne l'identification et la purification des flavonolignanes qui sont responsables de l'effet hépatoprotecteur.



**Références**  
**Bibliographiques**

-A-

- **Alaoui ismaili.S. (2016).** Valorisation de deux plantes marocaines *Melia azedarach* et *Silybum marianum*, Thèse de doctorat en Chimie et environnement, Université Mohammed V Faculté des Sciences de Rabat : 14-15-16,106-107.
- **Andrzejewska .J; Sadowska .K; Mielcarek. S. (2011).** Effect of sowing date and rate on the yield and flavonolignan content of the fruits of milk thistle (*Silybum marianum L. Gaertn.*) grown on light soil in a moderate climate, Journal of Industrial Crops and Products, 33(2) : 462–468.
- **Anton .R. (2003).**Plantes thérapeutiques ,2<sup>ème</sup>ED, ED, Lavoisier Tec & Doc et médicales internationales : 109.
- **Australian Naturopathic Practitioners Association Inc. (2015).***Silybum marianum*-ancient medicine for modern times: 3.
- **Agroum.S ; Koucha. S. (2016).**Evaluation de l'activité antioxydante *in vivo* et hypoglycémante des composés phénoliques d'extraits du lichen *xanthoria parietina*de la région de Boumerdès,mémoire pour l'obtention du Diplôme de Master Académique en Biologie,Université M'Hamed BougaraBoumerdès :33.
- **Attouche .A .(2017).** La ceto-acidose diabétique,Mémoire pour l'obtention du diplôme de doctorat en médecine ,Université A. Mira – Bejaia: 2-3.
- **Al-Shamaony.L; Al-Khazraji.SM;Twaij.HA.(1994).** Hypoglycaemic effect of *Artemisia herbaalba*II. Effect of a valuable extract on some blood parameters in diabetic animals,Journal of Ethnopharmacology, 43(3):167,I71.
- **Abdel-Barry .JA; Abdel-Hassan .IA; A1-Hakiem .MH. (1997).** Hypoglycaemic and antihyperglycaemic effects of *Trigonella foenum-graecum*leaf in normal and alloxan induced diabetic rats,Journal of Ethnopharmacology,58( 3):149,155.
- **Adisakwattana.S;Lerdsuwankij.O;Poputtachai.U;Minipun.A;Suparpprom.C .(2011).** Inhibitory Activity of Cinnamon Bark Species and their Combination Effect with Acarbose against Intestinal  $\alpha$ -glucosidase and Pancreatic $\alpha$ -amylase, Plant Foods Hum Nutr,66(2):143,148.
- **Akash.M;Rehman.K; Chen .S .(2014).**Spice Plant *Allium cepa*: Dietary Supplement for treatment of Type 2 Diabetes Mellitus.Nutrition,30(10):1128,1137.
- **Antwerpen. P.V. (2006).** Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique: Ciblage du système Myloperoxydase/ Peroxyde d'hydrogène/Chlorure. Thèse de doctorat. Université libre de Bruxelles:3,5.

- **Avissar N.; John.C.W.; Petter.Z.A;Denisa.D.;Wagner.P.;Harvey.J.C. (1989).**Plasma selenium-dependent glutathione peroxidase, *The journal of biological chemistry*,264(27):15850,15855.
- **Algeciras-Schimmich, A., Cook, W. J., Milz, T. C., Saenger, A. K., &Karon, B. S. (2007).**Evaluation of hemoglobin interference in capillary heel-Stick samples collected for determination of neonatal bilirubin. *Clinical Biochemistry*, 40(16-17), 1311 , 1316.
- **Anderson. TJ.(1997).** Oxidative stress, endothelial function and coronary atherosclerosis, *Cardiologia*,42:701,714.
- **Aissous .A ; Bechara .R .(2016).**Caractérisation chimique et activités biologiquesd'extrait brut hydro-alcoolique des graines de *Lepidiumsativum*, Mémoire master enBiochimie Moléculaire et Santé,Université des Frères Mentouri Constantine : 36.
- **Attou .A. (2011).**Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Rutachalepensis* (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent, Mémoire magister en biologie,Option: « Produits naturels : Activités biologiques et synthèses»,Université abou bekr belkaid tlemcen :47- 48.
- **Alaoui Ismaili.S; Marmouzi.I;Sayah.K; Harhar.H; Faouzi.M; Gharby.S; Himmi.H; Kitane.S; Alaoui El Belghiti.M.(2016).** Chemical analysis and anti-oxidation activities of the Moroccan Milk Thistle,*Moroccan journal of chemistry*,4(3):695.
- **Ahmed Saber Abu-zaiton.(2013).** Evaluating the Effect of *Silybum marianum* Extract on Blood Glucose, Liver and Kidney Functions in Diabetic Rats, *Advanced Studies in Biology*,5(10):451.
- **Aighewi B.A., Akoroda, M.,Asiedu,R. (1998).** “preliminary studies of seed yam production from minisetts with different thicknesses of cortex parenchyma in white yam( *Dioscorearotundata*)”, 6th Symposium of the ISTRC-AB, Lilongwe( Malawi): 22,28.

**-B-**

- **Bayer.E; Buller. K.P. (1990).** Guide de la flore méditerranéenne : caractéristiques, habitats, distributions et particularités de 536 espèces, ED,Delachaux et Niesthe Paris : 222.
- **Belkhada. J. (1997).** La pharmacopée marocaine traditionnelle, ED, ISBN. IBIS Press : 202.

- **Beloued. A. (1998).**Plantes médicinales d'Algérie, ED, Office des publications universitaires INA EL HRACH: 68.
- **Ben rahal. N. (2012).** Extraction, identification et caractérisation des molécules bioactives de la graine et de l'huile de *Silybum marianum*, Etude de leurs activités antioxydantes et antitumorales, Thèse de doctorat en Génie des procédés et des produits, Université de Lorraine (France) et Université de Carthage (Tunis) : 20,23,26,113.
- **Beniston. NT ; Beniston.WS. (1984).** Fleures d'Algérie, ED, Entreprise Nationale du livre Alger, N ED, 1822/84 : 274.
- **Benmarce .Y ; Assas .N ; Chaalal .A. (2016).** La silymarine (chardon-marie), de puissantes propriétés anticancéreuses et hépatoprotectrices, Mémoire master en Toxicologie et Santé, Université des Frères Mentouri Constantine : 1,3,4,6.
- **Bruneton.J. (2016).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 5<sup>ème</sup>ED, ED, Lavoisier Tec & Doc, Paris : 401-402.
- **Burnie. G. (1997).**Encyclopédie de botanique et de l'horticulture, Plus de 10.000 plantes du monde entier, ED, Random house Australiptyltd : 843.
- **Bitil. A. (2015).**Les insulines, médicaments actuels et évolution dans la prise en charge du diabète insulino-dépendant, thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université de Rouen : 10-11,31.
- **Buyschaert. M. (2009).** Diabétologie clinique ,3<sup>ème</sup> ED, ED De Boeck : 9.
- **Bouhouche .I . (2014).**Etude comparative de l'alloxane et de la streptozocine dans le diabète expérimental chez le rat blanc, Etude histologique du pancréas endocrine et la variation des paramètres sanguins,mémoire magister en Biologie Animale,Université des Frères Mentouri Constantine : 15-16.
- **Benmansour.k.(2014).**Etude comparative des biomarqueurs précoces d'effets glomérulaire et tubulaire de la néphropathie diabétique chez les diabétiques type1 et 2 dans la région de Tlemcen,Mémoire master en alimentation et nutrition,Université Abou Bekr Balkaid Tlemcen : 13-14-15.
- **Boultif .Z ; Bioud. F.(2014).**Dosage de quelques marqueurs biologiques de l'insuffisance rénale chez les diabétiques,Mémoire master en analyse protéomique et santé,Université Mentouri Constantine :15.
- **Bouchama. I. (2014).**Les diabetes monogeniques mody,Thèse Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie,Université Mohammed V – Souissi : 85.

- **Bouid .H. (2012).** Les plantes médicinales et diabète de type 2 (A propos de 199 cas), Thèse pour l'obtention du doctorat en médecine, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah : 34.
- **Boudjelal.A;Henchiri.C; Siracusa.L; Sari .M;Ruberto. G .(2012).**Compositional analysis and *in vivo* anti-diabetic activity of wild Algerian *Marrubiumvulgare L.* infusion, *Fitoterapia*, 83(2): 286,292.
- **Bonnefont-Rousselot, D., Théron, P., & Delattre, J. (2003)** .Radicaux libre et antioxydant en : Delattre, J., Durand, G., Jardillier, J. C. Biochimie pathologique aspects moléculaires et cellulaires, 2<sup>ème</sup>ED,ED Médecine-science Flammarion, Paris :317.
- **Bentafar.S ;Chaib.M.(2016).**Contribution à l'étude phytochimique et à l'effet antioxydantde l'extrait méthanolique d'*Eruca vesicaria*,mémoire master en biochimie moléculaire et santé,université des frères mentouriconstantine :21,32.
- **Belmimoun.A .(2016).**Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de quelques plantes aromatiques et médicinales,thèse du doctorat 3<sup>ème</sup> cycle en science technologie et santé,université de mustaphastambouli de mascara : 7,9.
- **Bruneton. J.(1999).** Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales, ED Lavoisier Tec & Doc, Paris : 369,388.
- **Bahorun.T. (1997).**Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle, université de Maurice : 86.
- **Benchaachoua.A; MahdjoubBessam.H; Saidi.I.(2018).** Effects of Different Extraction Methods and Solvents on the Phenolic Composition and Antioxidant Activity of *Silybum Marianum* Leaves Extracts, *International Journal of Medical Science and Clinical Invention* ,5(03):3643,3645.

-C-

- **CaremeS. C. (1990).** Les adventices des cultures méditerranéennes en Tunisie, leurs plantules, leurs semences, Publication agricole n° 27 :102-103.



- **Charrié. JC ; Chastel .B ; Cieur. C; Combe .P; Damak .M; Hedayat.K; Saigne-soulard .C. (2017).**Plantes médicinales, Phytothérapie clinique intégrative et médecine endobiogénique, ED, Lavoisier Tec & Doc : 256-257-260-261-262,264.
- **Carneiro.M ; Dumont .C. (2009) :** Maladie de Biermer chez une adolescente diabétique, Archive de Pediatrie,16 (4): 357,359.
- **Cherifi . MEH.(2013).** L'apport de la biochimie au diagnostic clinique,2<sup>ème</sup>ED, ED Galaxie :80.
- **Clémentine. B ; Mathieu. S; Elena.V; Ilonka. S. (2012).**Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachishypogaea L.*), Revue de Génie Industriel : 37.
- **Chung .YC ; Chang .CT ; Chao .WW ;Lin .CF ;Chou .ST. (2002).**Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50 (8), 2454, 2458.

**-D-**

- **Debuigne. G ; Couplan .F. (2006).** Petit LAROUSSE des plantes qui guérissent, ED, Larousse : 296-297.
- **Deysson. G. (1979).** Organisation et classification des plantes vasculaires, 2<sup>ème</sup> partie. Systématique, Cours de botanique générale, 4<sup>ème</sup> série T II, ED, CUD SEDES : 540.
- **Dodd. J. (1989).** Phenology and seed production of varbегatee thistle, *Silybum marianum (L) Gaertn.* , in Australie in relation to mechanical an biological control, Weed Research 29: 255,263.
- **Drouin .P ;Blickle. JF ;Charbonnel .B ;Eschwege.E ;Guillausseau.PJ ; Plouin. PF ; Daninos. JM ;Balarac. N ;Sauvanet.JP . (1999).**diagnostic et classification du diabète sucré les nouveaux critères,Diabetes&Metabolism (Paris), 25(1): 72.
- **Diakite. YD. (2007).** Complications métaboliques aiguës du diabète en milieu de réanimation au point «G», Thèse pour l'obtention du grade de docteur en médecine,Université de Bamako Mali : 32.
- **Djedioui .A. (2010).**Evaluation de l'activité hypoglycémiantе et antihyperglycémiantеde l'extrait aqueux d'*Inulaviscosa*; une plante de l'Est Algérien chez le rat avec un diabète induit,Mémoire magister enbiochimie appliquée, Université Badji Mokhtar–Annaba : 8,10.

- **Delattre, J., Beaudoux, J. L., & Bonnefont-Rousselot. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques, ED Lavoisier TEC & DOC ED Médicales Internationales, Paris : 14 , 93 , 94.
- **Davide, G. W. (2015).** Encyclopedia of Mind Enhancing, Foods, Drugs and Nutritional Substances. Second ED, EDMcfarland & Company, Inc, Publishers Jefferson, North Carolina: 166.
- **Dohou. N; Yamni. K; Gmira. N; Idrissi Hassani. LM. (2003).** Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine Thymelaealythroïdes, Bull. Soc. Bordeaux, 142: 61,78.

**-E-**

- **Eidi. A; Eidi. M; Esmaili. E. (2006).** Antidiabetic effect of garlic (*Allium sativum L.*) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats, Phytomedicine, 13(9-10) : 624,629.

**-F-**

- **Fleurentin. J. (2013).** Du bon usage des plantes qui soignent, ED, Ouest-France : 138.
- **Fournier. P. (2010).** Dictionnaire des plantes médicinales et vénéneuses de France, ED, Omnibus, Paris : 246-247.
- **Friedman. S ; Villa. G ; Christine. M. (1996).** Diabète insulino-dépendant, stress et troubles psychiatrique. Encycl. Med. Chir. EMC. Psychiatrie : 10.
- **Favier. Alain. (2003).** Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique .l'actualité chimique. 12 : 108 , 115.
- **Fagbohoun. L. (2014).** Etude chimique de colorants naturels et matériaux résineux traditionnels du Bénin dans le domaine artisanal, thèse de doctorat en chimie organique et substances naturelles, université d'Avignon (France) : 48.

**-G-**

- **Gabay. R; Plitmann. U; Danin. A. (1994).** Facteurs affectant la dormance du *marianum L* (Asteraceae) de *Silybum* dans ses habitats spécifiques, Flore 189: 201, 206.
- **Guignard. J.L. (1998).** Botanique, 11<sup>ème</sup> ED, ED, Masson: 278.
- **Guittonneau. G ; Huon .A. (1983).** Connaître et reconnaître la flore et la végétation Méditerranéennes, ED, Ouest France : 331.

- **Guerroudj.O ;Hattab. N.(2017).** Etude de la combinaison des bêta -glucanes de l'orge et des bactéries lactiques sur des rates Wistar rendues diabétiques par la streptozotocine,mémoire master enbiochimie moléculaire et santé,Université des Frères Mentouri Constantine : 2.
- **Guerin-Dubourg.A. (2014).** Etude des modifications structurales et fonctionnelles de l'albumine dans le diabète de type 2 : identification de biomarqueurs de glycoxydation et de facteurs de risque de complications vasculaires, Thèse doctorat en biochimie,université de la Réunion : 29.
- **Guiraud.E .(2013).**Maladies parodontales et diabète, Thèse pour lediplôme d'état de docteur en pharmacie, Université Paul Sabatier - Toulouse III : 33.
- **Gallant. M.(2006).** Le diabète gestationnel(de grossesse), ED Québec:1
- **Gutteridge J.M. (1993).** Free radicals in disease processes: a complication of cause and consequence. *Free Radic. Res. Commun.* 19: 141,158.
- **Ganther H.E. (1999).** Selenium metabolism, selenoproteins and mechanisms of cancer prevention: complexities with thioredoxinreductase, *Carcinogenesis*,20 (9): 1657, 1666.
- **Gardès-Albert M, Dominique Bonnefont-Rousselot ; Zohreh Abedinzadeh Z et Daniel Jore D. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène: Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ?*L'actualité chimique*:91,96.
- **Ghazalvessal ;masoumehakmali ;parisanajafi ;mahmoodreza moein;mohammad mahdisagheb.(2010).**Silymarin and milk thistle extract may prevent the progression of diabetic nephropathy in streptozotocin-induced diabetic rats,journal renal failure,32(6):733,739.

**-H-**

- **Hauf. M. (1982).** Les adventices d'Europe, leurs plantules, leurs semences, ED, BASF : 90.
- **Hostettmann. K. (1997).** Tout savoir sur le pouvoir des plantes, sources de médicaments, ED, Favre SA, Lausanne (Suisse) : 117.
- **Horn.F; Lindenmeier. G ;Moc. I ;Grillhosl. C; Berghold.S ;Schneider.N ; Munster.B. (2005).**Biochimiehumaine, ED Flammarion: 357-358.
- **Hamza. N ;Berke.B ;Cheze.C ;Agli.A ; Robinson .P ;Ginc.H ; Moore .N . (2010).**Prevention of type 2 diabetes induced by high fat diet in the C57BL/6J mouse

by two medicinal plants used in traditional treatment of diabetes in the east of Algeria, *Journal of Ethnopharmacology*, 128( 2): 513,518.

- **Halenge.J;Pencemail.J;Defraigne.J;Charlier.C;Chapelle.J.(2007).**Lestress oxydant,62:628.
- **Halliwell, B., &Gutteridge, J. M. C. (2007).** Free Radicals in biology and medicine, 4<sup>ème</sup>ED Oxford University Press New York: 851.
- **Halliwell, B., &Gutteridge, J. M. C. (1996).** Mechanisms involved in the generation of free radicals. *PathologieBiologie*, 44(1): 6 ,13.
- **Halmi.S.(2015).**Etude botanique et phytochimique:Approche biologique et pharmacologique d'*Opuntia ficus indica*.Thèse doctorat en Biotechnologies végétales,Université des frères mentouri constantine :52.
- **Hostettmann K., Potterat O., Wolfender JL.(1998).** The potential of Higher Plants as aSource of New Drugs. *Chimia*52 : 10,17.

**-J-**

- **Jacques B, and André R. (2004).** Biochimie métabolique.ED ellipses,Paris:217,219-220,223,225.

**-K-**

- **Karkanis .A; Bilalis. D; Efthimiadou .A. (2011).** Cultivation of milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.), a medicinal weed. *Industrial Crops and Products*, 34: 825,830.
- **Knip .M ; Virtanen .S ;Seppa.K ;Llonen.J.(2010) .**Dietary Intervention in Infancy and Later Signs of Beta-Cell Autoimmunity.NEngl J Med,363:1900,1908.
- **Khan. SA; Al Kiyumi.A; Al Sheidi.M; Al Khusaibi.T ; Al Shehhi.N ; Alam .T .(2016).** In vitro inhibitory effects on  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase level and antioxidant potential of seeds of *Phoenix dactylifera* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*,6(4): 322,329.
- **Kabel A.M.(2014).** Free Radicals and Antioxidants: Role of Enzymes and Nutrition/*World Journal of Nutrition and Health*, 2 (3): 36.
- **Koffi. N ; Beugré. K; Guédé. N. Z ; Dossahoua. T; Laurent. A. (2009).** Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou(Agboville, Côte-d'Ivoire), *Sciences & Nature*, 6(1:1):15.

**-L-**

- **Luper .S. (1998).** A review of plants used in the treatment of liver disease: part 1. *Alternative Medicine Review* volume ; 3(6): 21,410.
- **Langlois.A.(2008).**Optimisation de la revascularisation des îlots pancréatiques au cours de la transplantation: approche génétique ou pharmacologique?, Thèse de doctorat en Sciences de la Vie et de la Santé, Université Louis Pasteur Strasbourg I France : 19.
- **Laib. R;Ghanemlakhel.S;Kitouni.K.(2017).**Les conséquences physiopathologiques dediabète, mémoire master en toxicologie et santé,Université des Frères MentouriConstantine :4-5,8.
- **Lakache .M ;Zeghib. R; Houadeg.K. (2017).**L'impact d'un traitement par un extrait aqueux d'une plante medicinale sur la glycemie et le profil lipidique chez des rats sains et des rats rendus diabetiques par la streptozotocine, mémoire master en toxicologie,Université des Frères Mentouri Constantine : 5.
- **Leroy. C. (2012).**Étude phénotypique de 155 patients suspects de MODY. *Identification des patients éligibles à la poursuite des explorations génétiques*,Thèse pour le diplôme d'état de docteur en médecine, Université du droit et de la santé — Lille 2 : 4 , 8.
- **Lacolley, P., Babuty, D., Boulanger, C., Ghaleh, B., Loirand, G., Pinet, F., & Samuel, J.L. (2007).** Biologie et pathologie du coeur et des vaisseaux. Ed JohnLibbeyEurotext, Paris: 312 , 316 , 317.
- **Letkessas.H ;Adraa.I.(2017).** Evaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits de *CeratoniasiliquaL*,mémoire master en biochimie moléculaire et santé,Université des Frères Mentouri Constantine : 21,27-28,33,37.
- **Lehout. R ; Laib. M. (2015).** Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale: *Artemisia herba alba* Ass, mémoire master en biochimie moléculaire et santé, Université des Frères Mentouri Constantine :3
- **Lahffar .O ; Bensabeur I. (2017).**Synthèse, Caractérisation et activité anti-oxydante des complexes de Cuivre (II) dérivé de ligands amide, Mémoire master en Chimie Inorganique et environnement, université aboubekrbelkaid- tlemcenIII : 11.
- **Laichaoui .A. (2016).**Caractérisation préliminaire d'une plante médicinale de marrube « *Marrubiumvulgare.L* » pour son utilisation dans l'industrie alimentaire,

Mémoire master en qualité et conservation des aliments, université M'Hamed Bougara Boumerdes : 27.

- **Laraba .M; Serrat .A ; Ouassaa. G. (2016).** Etude in vitro de l'activité antioxydante des polyphénols isolés à partir d'une plante médicinale, Mémoire de Master en Toxicologie et Santé, Université des Frères Mentouri Constantine : 54.

**-M-**

- **Messegue. M. (1975).** Mon herbier de santé, Les plantes qui guérissent, ED, Robert Laffont, Paris : 334.
- **Mickael. (2003).** First report of *Silybum marianum* as a host of *Puccinia punctiformis*, *Plant Disease*. 86:1271.
- **Montemurro. P; Fracchiolla .M; Lonigro .A. (2007).** Effects of Some Environmental Factors on Seed Germination and Spreading Potentials of *Silybum marianum* Gaertner, *Italian Journal of Agronomy*, 2: 315,320.
- **Morazzoni. P; Bombardelli. E. (1995).** *Silybum marianum* (*Carduus marianus*), *Fitoterapia*, 66(1): 3,49.
- **Mouillé –Richard. THM. (2014)** .Utilisation du chardon-marie (*Silybum marianum*) dans les affections hépatiques chez les oiseaux et le furet: présentation de quelques cas cliniques, Thèse de doctorat vétérinaire, École nationale vétérinaire d'Alfort : 72.
- **Mahfouz .R. (2015).** Insulinorésistance musculaire induite par les céramides: étude des mécanismes d'action et de l'implication du transporteur CERT, Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université Paris VI, Université Pierre et Marie Curie (UPMC) : 14,17.
- **Mokrani .EH.(2012).** Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique, mémoire pour l'obtention du diplôme de magister en biochimie, Université Mentouri Constantine : 4.
- **Marfak. A. (2003).** Thèse de doctorat Radiolyse Gamma des flavonoïdes ; Etude de leur réactivité avec des radicaux issus des alcools, université de Limoges : 6-7,10.
- **Médart, J. (2009).** Manuel pratique de nutrition: l'alimentation préventive et curative, 2<sup>ème</sup> ED, ED de Boeck supérieur : 51 - 52.

- **Meziti .A (2007).** Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigellasativa L* Etude *in vitro* et *in vivo*, Mémoire de Magister Université de Batna : 30,35,49,67.
- **Madi.A; Zaghed .N; Halmi.Sihem; Belkhiri.A. (2017).**Antioxidant Activity And Phenolic Compounds Contents Of Spider Flower (*Cleome Arabica Ssp.Arabica*), A Well Acclimated Species In The Algerian Desert Areas, *European Scientific Journal*, 13(12):106.
- **Monica. B;Magdalena C. Z;Mădălina E.S; Alina. P ;Ponepal.C.M.(2016).** Investigation On The Hypoglycemiant Effect Of Some Vegetal Extracts In Experimental Intoxications At Cd-1 Mice, *Current Trends in Natural Sciences*,5(10):104-105-106.
- **Mhamdi.B;Abbassi.F; Smaoui.A;Abdelly.CH ;Marzouk.B.(2016).** Fatty acids, essential oil and phenolics composition of *Silybum marianum* seeds and their antioxidant activities, *Pak. J. Pharm*,29(3):957-958.
- **Myers.N, RA. Mittermeier, CG. Mittermeier, GAB. da Fonseca, J. Kent(2000),** *Nature*. 403 : 853.

-N-

- **Nouri. A. (2014).** Les anomalies des métabolismes lipidiques chez les diabétiques dans la wilaya de Bordj Bou Arreridj, mémoire magister en biologie et physiologie moléculaire, Université des Frères Mentouri Constantine : 4-5.
- **Najjaa.N; Zouari.S; Arnault.I;Auger.J;Emna.A; Neffati.M. (2011).** Différences et similitudes des métabolites secondaires chez deux espèces du genre *Allium* *Alliumroseum L.* et *Allium ampeloprasum L.*, *Acta Bot. Gallica*, 158(1) :111,123.
- **Ningbo Qin ;Xu Hu ;Shengge Li ;Jian Wang ;Zhanlin Li ;Dahong Li ;Fanxing Xu ;Ming Gao ;Huiming Hua.(2017).** Hypoglycemic effect of silychristin A from *Silybum marianum* fruit via protecting pancreatic islet b cells from oxidative damage and inhibiting a-glucosidase activity *in vitro* and in rats with type 1 diabetes, *Journal of Functional Foods*:172.

-O-

- **Ozenda,P.(1997).**Flore du sahara ,ED Cnrs ,paris,France :250,259.



- **Oruambo.Ibiba F; Onuba.Ezinne O; Anyim. Susan D.(2010).** Glucose tolerance test in hyperglycemic Guinea Pigs treated with aqueous *VernoniaAmygdalina*, Medical Journal of Islamic World Academy of Sciences, 18(1):23.

**-P-**

- **Pepping. J. (1999).** Milk thistle: *Silybum marianum*. Am. J Health-System Pharm.; 56:1195,1197.
- **Peris. JB; Stubing. G; Figuerola. R. (1996).** Guide des plantes Médicinales de la Communauté de Valence, Valence : Les Provinces : 127.
- **Pizzorno JE. Jr ; Murray Michael .T . (1999).***Textbook of Natural Medicine*, Churchill Livingstone, États-Unis : 948.
- **Priyanka. T; Hem Raj .V; Sharma .RB. (2017).** *A Review On Pharmacological Aspects Of Milk Thistle* , 6(1): 257.
- **Poullot .AG. (2016).**Étude phénotypique des mutations rares responsables de diabète mitochondrial,Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en médecine,Université de Nice Sophia Antipolis : 18.
- **Park. J., Jung .W. K.(2001).** et al. "Purification and characterization of antioxidative peptides from protein hydrolysate of lecithin-free egg yolk." *Journal of the American oil Chemists Society*,78 (6): 651.

- **Packer, L., Kraemer, K., &Rimbach, G. (2001).** Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications, *Nutrition*, 17 (10) : 888 , 895.

**-Q-**

- **Qavami .N; NaghdiBadi. H; Labbafi. MR; Mehrafarin. A. (2013).***A Review on Pharmacological, Cultivation and Biotechnology Aspects of Milk Thistle (Silybum marianum (L.) Gaertn.)*, 12 : 20,25,28-29-30-31.
- **Quézel.P ; Santa.S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales Tome 2, ED, CNRS : 804 ,806, 1011.

**-R-**

- **Roberfroid, M. B., Coxam,V., &Delzenne, N. M. (2008).** Aliments fonctionnels. 2<sup>ème</sup>ED, ED Lavoisier TEC & DOC : 209, 215.

- **Retsky, K. L., K. Chen, J. Zeindet B. Frei (1999).** "Inhibition of copper-induced LDL oxidation by vitamin C is associated with decreased copper-binding to LDL and 2-oxohistidine formation," *Free Radical Biology and Medicine*, 26(1-2): 90, 98.
- **Rashidi .A ;Noureddini.M . (2011).** Hypoglycemic Effect of the Aromatic Water of Leaves of FicusCaricaIn Normal and Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Pharmacologyonline*, 1: 372,379.
- **Rebai .R.(2017).**Corrélations entre le comportement dépressif, le profil lipidique et les paramètres du stress oxydatif au cours du diabète expérimental: Effet protecteur de la mélatonine et de la fluoxétine, Thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat de 3ème cycleen Biochimie appliquée,Université des frères Mentouri Constantine: 4.
- **Rahhou. EH.(2016).**L'autosurveillance glycémique des patients diabétiques : des méthodes conventionnelles vers des alternatives non invasives,Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie,Université de Lille 2 : 29,36,40.
- **Redouane .SA. (2011).**Etude de quelques paramètres biologiques et physiologiques de la Néphropathie Diabétique,Mémoire magister en Biologie et Physiopathologie Cellulaire,UniversitéMentouri Constantine : 6-7.
- **Rodier .M . (2001).** Définition et classification du diabète, Médecine nucléaire-Imagerie fonctionnelle et métabolique,25(2): 91,93.
- **Roche. C. (1991).** Milk thistle (*Silybum marianum (L.) Gaertn.*) Pacific Northwest Extension Publication, Washington State University, Oregon State University and University of Idaho Cooperative Extension. PNW: 382.

-S-

- **Sindel.BM. (1991).** A review of the ecology and control of thistles in Australia, *Weed Research*, 31: 189,201.
- **Spichiger. R.E ; Savolainen.V ; Figeat .M . (2000).** Botanique systématique des plantes à fleurs, Une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales, 1<sup>ème</sup>ED, ED,Presses polytechniques et universitaires romandes : 372.
- **Shimizu .H.(2004).** Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population : *the Hisayama study*, *Stroke*,35 (9) : 2072.

- **Stargrove, M. B., Treasure, J., & Mckee, D. L. (2008).** Herb, Nutrient and Drug interaction: Clinical Implication ad Therapeutic Strategies, ED Mosby Elsevier:733.
- **Seghaouil.M ;Zermane.A. (2017).**Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques *in vitro* de l'espèce *Myrtus communis*L,mémoire master en biochimie moléculaire et santé, Université des Frères Mentouri Constantine :30,31,35 ,36,37,38.
- **Saima Hamid; AdilaSahar; Farnaz Malik; ShahzadHussain;RashidMahmood;Kazi Muhammad Ashfaq; TanveerAkhtar Malik; AbbasHassan and Asif Hanif Chaudhry.(2014).**Physico- chemical investigation and antioxidant activity studies on extracts of *Eruca sativa* seed: 161.
- **Segnou, FatakunC.A, Akoroda, M., Hahn,S. 1992.**"Studies on the reproductive biology of white yam(*Dioscorea rotundata*)".*Euphytica*.64(3):197.

-T-

- **Tapsoba .MTF. (2001).**Evaluation de l'équilibre glycémique à partir d'une étude rétrospective sur 4 ans chez 427 diabétiques suivis au centre hospitalier national Yalgado Ouedraogo, Thèse pour l'obtention du grade de docteur en médecine (Diplôme d'Etat), Université de Ouagadougou : 10 ,15.
- **TalaatElgarf .A ; Maher Mahdy. M ; Ali Sabri. N.(2015).** Effect of Silymarin Supplementation on Glycemic Control, Lipid Profile and Insulin Resistance in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus, International Journal of Advanced Research,3(12): 812 , 821.

-V-

- **Vincent. R. (1999-2000).** Abécédaire de phytothérapie : 26.
- **Volak. J ; Stodola. J. (1984).** Plantes médicinales, illustrations de frantiseksevera, ED. ARITA Grund Paris: 319.
- **Vialettes. B ;Atlan.C ;Conte.D ;Racciah.D ;Simonin.G. (2006).** Diabète sucré de type 1 et 2 del'enfant et de l'adulte, Complications, Endocrinologie nutrition, Faculté de médecine deMarseille : 1,45.
- **Valensi. P ; Viviani. V ; Duteil. R.(2005).**Diabète maladies métaboliques et nutrition,2<sup>ème</sup>ED,ED Vernazobres - Grego : 4 ,7.
- **Vats.V; Grover .J K; Rathi .S.(2002).**Evaluation of anti-hyperglycemic and hypoglycemic effect of *Trigonella foenum-graecum*Linn, *Ocimum sanctum* Linn and

*Pterocarpus marsupium* Linn in normal and alloxanized diabetic rats, Journal of ethnopharmacology 79(1): 95,100.

- **Vincent, J. L., & Martin, C.(2008).** Le syndrome de détresse respiratoire aigue. ED Springer Berlin Heidelberg New York: 172.
- **Vergely C., Rochette L.(2003).** Stress oxydant dans le domaine cardiovasculaire/*médecine thérapeutique cardiologique* ,1 (3).
- **Valko, M; C. J. Rhodes, J. Moncol, M. Izakovic et M. Mazur (2006)** ."Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer." *Chemico-Biological Interactions* 160(1): 22.

**-W-**

- **Wainstein.J;Ganz. T; Boaz .M; Dayan .YB;Dolev.E;Kerem.Z; Madar.Z .(2012).** Olive Leaf Extract as a Hypoglycemic Agent in Both Human Diabetic Subjects and in Rats,Journal of medicinal food,15(7): 605,610.

**-Y-**

- **Yves-Alain. B; Janat. A; Mamyrbekova. B; Boua. B; Fézan. H. Trabi; Ehouan. E. (2007).** Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. And *Zarucchi* (Caesalpinaceae), Sciences & Nature, 4 (2) : 217 , 225.
- **Yilirdim.A ;Mavi .A ;Kara.A.(2001).**Determination of antioxydant and antimicrobial activities of *Rumex crispus*L. extracts, journal of agricultural and food chemistry:411,420

**-Z-**

- **Zerriouh.M.(2015).**Contribution à l'étude phytochimique et activité antidiabétique de *Hammadascoparia*(Pomel),«Remth», Thèse pour l'obtention d'un diplôme de doctorat en biologie, Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen : 8.

**Sites Web**

- <http://www.sfendocrino.org/article/392/item-233-a-ndash-diabete-sucre-de-type-1>(consulté le 6/05/2018).

- <https://www.diabete.qc.ca/fr/vivre-avec-le-diabete/soins-et-traitements/medicaments-et-insuline/linsuline>(consulté le 7/05/2018).
- [https://www.diabete.qc.ca/medias/upload/files/DQ\\_guideconsommateur\\_avril2017\\_02.pdf](https://www.diabete.qc.ca/medias/upload/files/DQ_guideconsommateur_avril2017_02.pdf)(Guide 2017 des produits pour personnes diabétiques) (consulté le 9/05/2018)
- <http://www.medicunaplanta.com/spip.php?article29>(consulté le 25/03/2018).
- <http://www.nutranews.org/sujet.pl?id=416>(consulté le 26/03/2018).
- <http://www.drogaraia.com.br/legalon-90-mg-30-drageas.html>(consulté le 30/03/2018).
- <https://hebedesandes.com/les-radicaux-libres-et-antioxydants/>. (consulté le 28/04/2018).
- <https://www.omicsonline.org/open-access/cardioprotecting-effect-of-natural-bioactive-compound-polyphenol-byinhibiting-ldl-oxidation-with-the-scavenging-of-reactive-oxygen-2155-9880-1000453.php?aid=75741>( consulté le 28/04/2018).
- <http://www.planetvie.ens.fr/article/2383/maladies-neurodegeneratives> (consulté le 21 avril 2018).
- <https://www.google.dz/maps/@36.4507927,6.2286467,11z>(consulté le 1/4/2018)
- <https://www.espritsante.com/articles/acide-gallique>(Consulté le 2/4/2018)
- <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.4444362.html>(Consulté le 2/4/2018)
- <http://fracademic.com/dic.nsf/frwiki/1152884>(Consulté le 24/5/2018)



# **Annexes**

➤ **Criblage phytochimique :**

✓ **Préparation de la solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) 1/10 :**

1/10 c'est-à-dire 0,1N

Masse molaire NaOH = 40 g/ mol

**40g → 1N**

**Xg → 0,1N      Donc X = 4 g**

**4g → 1000 ml**

**Xg → 50 ml      Donc X = 0,2 g**

Dissoudre 0,2 g de NaOH dans 50 ml d'eau distillée (solution mère).

Faire la dilution 1/10 c'est-à-dire prendre 1 ml de la solution mère et compléter avec 9ml d'eau distillée.

✓ **Préparation de réactif de Mayer :**

Chlorure de Mercure (HgCl<sub>2</sub>) 2,70g

Iodure de Potassium (KI) 10g

Eau Distillée 20 ml

✓ **Préparation solution de chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) à 1% :**

Dissoudre 1 g chlorure ferrique dans 100 ml d'eau distillée.

✓ **Préparation de la Liqueur de Fehling :**

***Solution A :***

Dans un erlenmeyer de 250 ml : Dissoudre 7g de sulfate de cuivre penta hydraté dans 100 ml d'eau distillée.

***Solution B :***

Dans un erlenmeyer de 250 ml : Dissoudre 34,6 g de tartrate double de sodium et de potassium, 10 g d'hydroxyde de sodium dans 100 ml d'eau distillée.

✓ **Préparation de la solution d'hydroxyde de potassium (KOH) :**

Dissoudre 1 g d'hydroxyde de potassium dans 100 ml d'eau distillée.

➤ **Dosage des polyphénols totaux :**

✓ **Préparation de Folin-Ciocalteu 1/10 :**



Mélanger 1ml de Folin-Ciocalteu avec 9 ml d'eau distillée.

✓ **Préparation de carbonate de sodium 7,5 % :**

$$\begin{array}{l} 7,5g \rightarrow 100ml \\ Xg \rightarrow 50ml \end{array} \quad \text{Donc } X = 3,75g$$

Dissoudre 3,75g de carbonate de sodium dans 50ml d'eau distillé.

✓ **Préparation de standard (acide gallique) 0,1 mg/ml :**

$$\begin{array}{l} 0,1mg \rightarrow 1ml \\ Xmg \rightarrow 20ml \end{array} \quad \text{Donc } X = 2 \text{ mg}$$

Dissoudre 2mg d'acide gallique dans 20ml d'eau distillé.

✓ **Préparation de l'extrait 1mg/ml :**

*Pour les graines :*

$$\begin{array}{l} 1mg \rightarrow 1 \text{ ml} \\ Xmg \rightarrow 5 \text{ ml} \end{array} \quad \text{Donc } X = 5 \text{ mg}$$

Dissoudre 5 mg d'extrait méthanolique brut dans 5 ml de méthanol (solution mère).

Faire la dilution 2/10 c'est-à-dire prendre 2 ml de la solution mère et compléter avec 8 ml de méthanol

*Pour les feuilles :*

Dissoudre 10 mg d'extrait méthanolique brut dans 10 ml de méthanol (solution mère).

Faire la dilution 2/10 c'est-à-dire prendre 2 ml de la solution mère et complétée avec 8 ml de méthanol

➤ **Dosage des flavonoïdes :**

✓ **Préparation de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) 2% :**

$$\begin{array}{l} 2\% \text{ c'est-à-dire } 2g \rightarrow 100ml \\ Xg \rightarrow 50 \text{ ml} \end{array} \quad \text{Donc } X = 1 \text{ g}$$

Dissoudre 1g de trichlorure d'aluminium dans 50 ml de méthanol.

✓ **Préparation de standard (Rutine) 0,1 mg/ml :**

$$0,1mg \rightarrow 1ml$$

$$Xmg \rightarrow 10ml \quad \text{Donc } X = 1 \text{ mg}$$

Dissoudre 1mg de la Rutine dans 10ml d'eau distillée.

✓ **Préparation de l'extrait 0,1 mg /ml :**

$$0,1mg \rightarrow 1ml$$

$$Xmg \rightarrow 20ml \quad \text{Donc } X = 2 \text{ mg}$$

Dissoudre 2 mg d'extrait méthanolique brut (graines et feuilles) dans 20 ml de méthanol.

➤ **Préparation Evaluation de l'activité antioxydant par diphényl-picryl-hydrazyl (DPPH) :**

✓ **de la solution DPPH**

La solution de DPPH a été préparée par la solubilisation de 2,4mg de DPPH dans 100ml de méthanol (elle ne se conserve pas plus de 2 jours à  $-5C^{\circ}$  et à l'obscurité).

✓ **Préparation de standard (acide ascorbique) 0,1mg/ml**

$$0,1mg \rightarrow 1ml$$

$$Xmg \rightarrow 50ml \quad \text{Donc } X = 5mg$$

Dissoudre 5mg d'acide ascorbique dans 50 ml de méthanol.

✓ **Préparation de l'extrait**

*Pour les graines :*

$$5mg \rightarrow 1ml$$

$$Xmg \rightarrow 15ml \quad \text{Donc } X = 75 \text{ mg}$$

Dissoudre 75mg d'extrait méthanolique brut dans 15ml de méthanol.

*Pour les feuilles :*

$$10mg \rightarrow 1ml$$

$$Xmg \rightarrow 15ml \quad \text{Donc } X = 150mg$$

Dissoudre 150mg d'extrait méthanolique brut dans 15ml de méthanol.

➤ **Le pouvoir réducteur**

✓ **Préparation de la solution tampon phosphate à 0,2M et pH= 6,6**

*Solution 1 :*

Dans un bécher : Dissoudre 7,1g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  dans 250 ml d'eau distillée.

*Solution 2 :*

Dans un bécher : Dissoudre 7,8g de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  dans 250 ml d'eau distillée.

Mélanger 37,5 ml de solution 1 avec 62,5 ml de la solution 2

✓ **Préparation de la solution ferricyanure de potassium ( $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ) à 1 %**

Dissoudre 1g de ferricyanure de potassium dans 100 ml d'eau distillée.

✓ **Préparation de la solution acide trichloroacétique (TCA) à 10%**

Dissoudre 10g d'acide trichloroacétique dans 100 ml d'eau distillée.

✓ **Préparation de la solution chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) à 0,1%**

Dissoudre 0,1g de chlorure ferrique dans 100ml d'eau distillée.

➤ **Matériel utilisés**

Pompe à vide, Évaporateur Rotatif « rotavap », agitateur vortex, balance analytique, étuve, bain marie, Spectrophotomètre UV-visible, micropipette, agitateur magnétique, tubes secs, glucomètre (lecteur de glycémie), bandelettes, seringues à insuline.



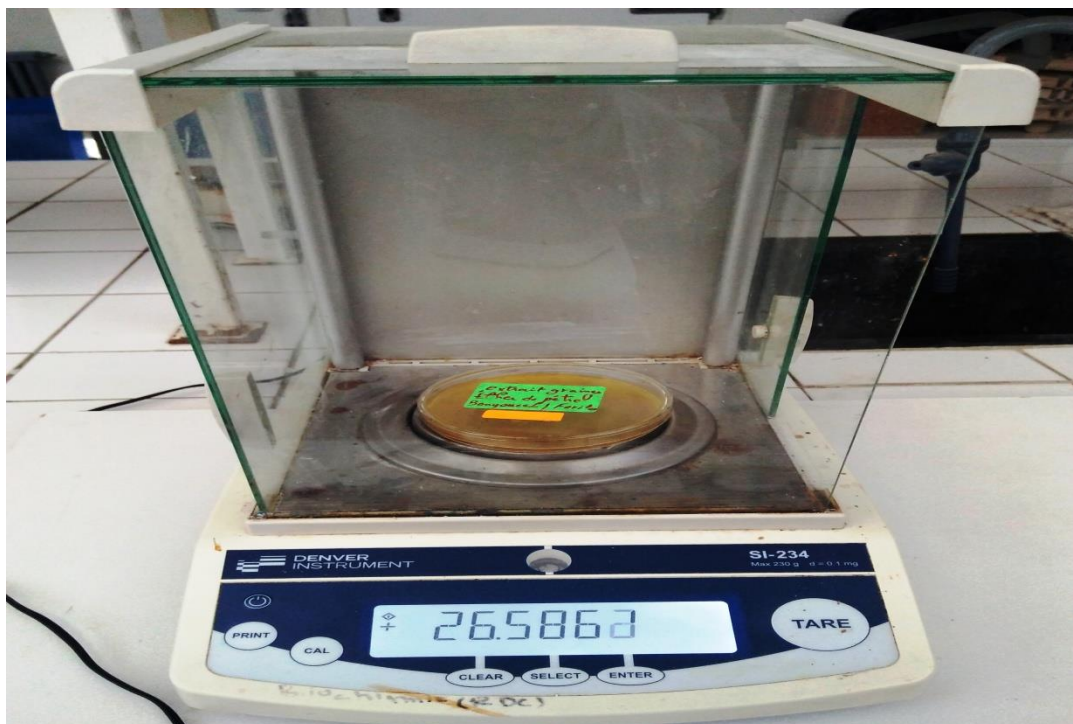
Annexe 01 : Appareillage de rotavapeur



Annexe 02: Spectrophotomètre



Annexe 03 : agitateur vortex



Annexe 04 : balance analytique



**Annexe 05 : Etuve**



**Annexe 06 : Bain marie**







## Résumé

*Silybum marianum* est une plante herbacée annuelle ou bisannuelle de la famille des Asteraceae et pousse nativement dans la région méditerranéenne. Connue sous le nom Chouk el djemel, Hacoub, Hharshaf barri

Cette étude effectuée sur les extraits méthanolique des grains et feuilles de *Silybum marianum* qui sont obtenus par macération à froid en utilisant comme solvant le méthanol /eau (7/3, V/V). Les tests phytochimiques ont révélé que cette plante est riche en flavonoïdes, les phénols, flavonoïdes glycosides, tanins catéchiques, stérols et polyterpènes dans les parties (graines et feuilles) de la plante, la présence des sucres réducteurs et tanins vrais seulement dans les graines de *Silybum marianum*

La teneur en phénols totaux est variable, l'extrait brut des graines présent une teneur de 136 mg EAG/g d'extrait, tandis que celle des feuilles est 28 mg EAG/g d'extrait.

La teneur des flavonoïdes a été déterminée par Rutine, une teneur de (630 mg ER/g d'extrait) pour les graines alors que pour les feuilles, elle est de (590 mg ER /g d'extrait).

Les résultats obtenus pour l'activité anti-radicalaire montrent que les extraits possèdent un faible pouvoir de piéger ce radical avec des IC50 de l'ordre de 0,598 mg/ml pour les graines, et de 0,438 mg/ml pour les feuilles. L'évaluation du pouvoir réducteur des deux extraits méthanoliques est égale à EC50 = 0.298 mg /ml pour les graines, et EC50 = 1.676 mg /ml pour l'extrait des feuilles.

Les résultats de l'évaluation de l'activité anti –hyperglycémiant et hypoglycémiant testé chez les rats avec une hyperglycémie temporaire provoquée par une solution du glucose et les rats normo-glycémique montrent que l'extrait méthanolique des graines et feuilles de *Silybum marianum* possède un bon potentiel hypoglycémiant et anti-hyperglycémiant.

## Mots clés :

*Silybum marianum*, métabolite secondaire, activité antioxydant, pouvoir réducteur, activité hypoglycémique et antihyperglycémique.

## Abstract

*Silybum marianum* is herbaceous annual or biennial plant from Asteraceae family and grows natively in the Mediterranean area. Known as Chouk el djemel, Hacoub, Hharshaf barri

This study was carried out on the methanolic extracts of the seeds and leaves of *Silybum marianum* which are obtained by cold maceration using a solvent (methanol / water (7/3, V / V). Phytochemical tests revealed that this plant is rich in flavonoids, phenols, flavonoid glycosides, catechic tannins, sterols and poly-terpenes in the parts (seeds and leaves) of the plant, the presence of reducing sugars and true tannins only in the seeds of *Silybum marianum*

The total phenol content is variable, the crude extract of the seeds has a content of 136 mg EAG / g extract, while that of the leaves is of the order of 28 mg EAG / g extract.

The content of the flavonoids was determined by Rutin, tenure of (630 mg ER / g extract) for the seeds where as for the leaves it was (590 mg ER / g extract).

The results obtained for the anti-free radical activity show that the extracts possess a low power to trap this radical with IC<sub>50</sub> of the order of 0.598 mg /ml for the seeds, and 0.438 mg / ml for the leaves. The evaluation of the reducing power of the two methanol extracts is equal to EC<sub>50</sub> = 0.298 mg /ml for the seeds, and EC<sub>50</sub> = 1.676 mg /ml for the extract of the leaves.

The results of the evaluation of the anti-hyperglycemic and hypoglycemic activity tested in the rats in temporary hyperglycemia caused by a solution of glucose and normoglycemic rats show that the methanolic extract of the seeds and leaves of the *Silybum marianum* possesses good hypoglycemic and anti-hyperglycemic potential.

## Keywords:

*Silybum marianum*, secondary metabolite, antioxidant activity, reducing power, anti-hypoglycemia and hyperglycemia activity.

## ملخص :

*Silybum marianum* هو نبات عشبي سنوي أو كل سنتين من العائلة النجمية وينمو أصلاً في منطقة البحر الأبيض المتوسط. المعروف بإسم شوك الجمل ، العكوب ، الحرشف البري

أجريت هذه الدراسة على مستخلصات الميثانول من بذور وأوراق *Silybum marianum* التي تم الحصول عليها عن طريق النقع البارد باستخدام مذيب (ميثانول / ماء (3/7 ، V / V). كشفت الفحوصات الكيميائية النباتية أن هذا النبات غني بالفلافونويد ، الفينولات ، جلايكوسيدات الفلافونويد ، العفص catechique، السثيرول ، التربينات المتعددة في الأجزاء (البذور و الأوراق) من النبات ، وجود السكريات المرجعية والعفص الحقيقي فقط في بذور *Silybum marianum*

محتوى الفينولات الكلية متنوع. المستخلص الخام للبذور يقدم محتوى 136 مغ مكافئ لحمض الغاليك /غ مستخلص، اما بالنسبة للأوراق فهو 28 مغ مكافئ لحمض الغاليك /غ مستخلص.

محتوى الفلافونويد حدد بواسطة الروتين . وجدنا محتوى 630 مغ مكافئ لروتين /غ مستخلص بالنسبة للبذور اما بالنسبة للأوراق 590 مغ مكافئ لروتين /غ مستخلص

النتائج المتحصلة عليها للنشاط المضاد للراديكالية تظهر ان المستخلصات تملك قدرة ضعيفة IC50. تساوي 0,598 ملغ/مل بالنسبة للبذور و قدرة 0,438 ملغ/مل بالنسبة للأوراق. تقييم قدرة ارجاع المستخلصين EC50 = 0.298 ملغ/مل بالنسبة للبذور و EC50 = 1.676 ملغ/مل بالنسبة للأوراق.

بينت نتائج تقييم نشاط الحد من ارتفاع السكر و تخفيض السكر المجربة لدى الفئران في حالة ارتفاع سكر مؤقتة المسببة بمحلول سكري وعند الفئران في حالة سكر معتدلة ان المستخلص الميثانولي لبذور و أوراق شوك الجمل يملك امكانية جيدة على تخفيض السكر والحد من ارتفاعه

## الكلمات المفتاحية :

شوك الجمل، الأيضات الثانوية ، النشاط المضاد للأكسدة ، قدرة ارجاع ، نشاط خافض للسكر و المضاد لارتفاع السكر.



Date de soutenance : 25/06/2018

BENYOUCEF Fatima zohra  
FERITAS Hadjer

## Approche phytochimique et activités biologiques (*in vitro* et *in vivo*) d'une plante médicinale *Silybum marianum*

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Appliquée

### Résumé

*Silybum marianum* est une plante herbacée annuelle ou bisannuelle de la famille des Asteraceae et pousse nativement dans la région méditerranéenne. Connue sous le nom Chouk el djemel, Hacoub, Hharshaf barri

Cette étude effectuée sur les extraits méthanolique des grains et feuilles de *Silybum marianum* qui sont obtenus par macération à froid en utilisant comme solvant le méthanol /eau (7/3, V/V). Les tests phytochimiques ont révélé que cette plante est riche en flavonoïdes, les phénols, flavonoïdes glycosides, tanins catéchiques, stérols et polyterpènes dans les parties (graines et feuilles) de la plante, la présence des sucres réducteurs et tanins vrais seulement dans les graines de *Silybum marianum*

La teneur en phénols totaux est variable, l'extrait brut des graines présent une teneur de 136 mg EAG/g d'extrait, tandis que celle des feuilles est 28 mg EAG/g d'extrait.

La teneur des flavonoïdes a été déterminée par Rutine, une teneur de (630 mg ER/g d'extrait) pour les graines alors que pour les feuilles, elle est de (590 mg ER /g d'extrait).

Les résultats obtenus pour l'activité anti-radicalaire montrent que les extraits possèdent un faible pouvoir de piéger ce radical avec des IC50 de l'ordre de 0,598 mg/ml pour les graines, et de 0,438 mg/ml pour les feuilles. L'évaluation du pouvoir réducteur des deux extraits méthanoliques est égale à EC50 = 0.298mg /ml pour les graines, et EC50 = 1.676 mg /ml pour l'extrait des feuilles.

Les résultats de l'évaluation de l'activité anti-hyperglycémiant et hypoglycémiant testé chez les rats avec une hyperglycémie temporaire provoquée par une solution du glucose et les rats normo-glycémique montrent que l'extrait méthanolique des graines et feuilles de *Silybum marianum* possède un bon potentiel hypoglycémiant et anti-hyperglycémiant.

**Mots clés :** *Silybum marianum*, métabolite secondaire, activité antioxydant, pouvoir réducteur, activité hypoglycémique et antihyperglycémique.

**Laboratoire de recherche :** Laboratoire de Biochimie RDC

**Jury d'évaluation :**

**Présidente du jury :** Dr.MADI Aicha (Maitre de conférences classe B-UFM Constantine1).

**Rapporteur :** Dr.MAAMERI Zineb (Maitre de conférences classe A-UFM Constantine1).

**Co-Encadreur :** Dr.Halmi Sihem (Maitre de conférences classe B-UFM Constantine1).

**Examinatrice :** Dr.Mosbah Asma (Maitre de conférences classe A-UFM Constantine1).

**Année universitaire :**  
2017/2018